



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**VYUŽITÍ PLAZMATU PRO DEGRADACI IBUPROFENU VE
VODÁCH**

USE OF PLASMA FOR DEGRADATION OF IBUPROFEN IN WATER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ondřej Bača

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1369/2018
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Ondřej Bača**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.**
Akademický rok: 2018/19

Název bakalářské práce:

Využití plazmatu pro degradaci ibuprofenu ve vodách

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracování literární rešerše na téma degradace léčiv (ibuprofenu) pomocí pokročilých oxidačních procesů a jeho stanovení separačními metodami.
2. Zvolení vhodné metody a její ověření pro stanovení ibuprofenu.
3. Provést experimenty s aplikací plazmatu na modelových vodách s obsahem ibuprofenu.
4. Zhodnotit získané výsledky a navrhnout možnosti dalších měření.

Termín odevzdání bakalářské práce: 24.5.2019

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Ondřej Bača
student(ka)

Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2019

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá problémem zvyšujících se koncentrací zejména nesteroidních protizánětlivých látek ve vodách. Nárůst koncentrací těchto látek je způsoben zvýšeným příjmem léčiv s antiflogistickými účinky v moderní době. Čistírny odpadních vod nedokáží zcela eliminovat tyto látky v odpadních vodách, díky čemuž může docházet ke kontaminaci podzemní i povrchové vody. Dlouhodobý negativní dopad těchto látek na zdraví člověka nelze zcela vyloučit, proto je nutné vyvíjet nové metody, které by vedly k úplné degradaci jak nesteroidních protizánětlivých látek, tak i dalších polutantů.

Literární rešerše této práce se zaměřuje na popis a vlastnosti nesteroidních protizánětlivých látek a jejich spotřebu v České republice. Dále je zde pojednáno o pokročilých oxidačních procesech, se zaměřením na plazma, a analytických metodách, které slouží ke stanovení protizánětlivých látek ve vodách. V experimentální části bylo k degradaci ibuprofenu ve vodách použito plazma. Během ošetřování roztoku plazmatem byly odebírány vzorky v pravidelných časových intervalech. Následně byly vzorky stanoveny analytickou metodou LC-ESI-MS. Výsledky byly srovnány s vědeckými studiemi zabývajícími se tímto tématem.

ABSTRACT

This Bachelor's thesis deals with the current problem of increasing concentrations of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in water. The concentration increase of these drugs is due to rised anti-inflammatory drugs intake in modern era. Wastewater treatment plants are not capable of sufficient elimination of these drugs in wastewater. That leads to contamination of groundwater and surface water. The long-term impacts of these drugs on human health is not fully understood, so it is necessary to develop new methods, which will lead to complete degradation of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and other pollutants.

Theoretical part of the Bachelor's thesis focuses on description and properties of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and their consumption in the Czech Republic. Furthermore, the paper deals with advanced oxidation processes especially with plasma. This part of the paper also deals with determination of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in water. For degradation of ibuprofen was used plasma. During the plasma treatment, samples were taken in regular time intervals, which were afterwards determined by an appropriate analytical method LC-ESI-MS. The results were compared with scientific studies dealing with this topic.

KLÍČOVÁ SLOVA

Nesteroidní protizánětlivé látky, ibuprofen, degradace léčiv, pokročilé oxidační procesy, plazma, vysokoúčinná kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie,

KEYWORDS

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, ibuprofen, degradation of drugs, advanced oxidation processes, high-performance liquid chromatography, mass spectrometry

BAČA, O. *Využití plazmatu pro degradaci ibuprofenu ve vodách*. Brno, 2019. 45 s. Bakalářská práce na Fakultě chemické Vysokého učení technického v Brně, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí bakalářské práce Ing. Ludmila Mravcová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval své vedoucí Ing. Ludmile Mravcové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a vstřícnost. Dále bych chtěl poděkovat konzultantce doc. Ing. Zdence Kozákové, Ph.D. za její odborné rady, trpělivost a pomoc při provádění experimentů v laboratoři plazmochemie. Touto cestou bych také rád poděkoval Ing. Tereze Švestkové a Ing. Pavlíně Landové za jejich vstřícnost a cenné rady k měření na kapalinovém chromatografu a také Ing. Petře Sukové za její čas a ochotu v laboratoři.

OBSAH

1	Úvod.....	7
2	Teoretická část	8
2.1	Léčiva.....	8
2.1.1	Farmakokinetika a farmakodynamika	8
2.2	Nesteroidní protizánětlivé látky	8
2.2.1	Historie a vývoj nesteroidních protizánětlivých látek.....	9
2.2.2	Klasifikace nesteroidních protizánětlivých látek	9
2.2.2.1	Salicyláty	9
2.2.2.2	Pyrazolidindiony	10
2.2.2.3	Deriváty kyseliny anthranilové.....	10
2.2.2.4	Deriváty arylalkanových kyselin (fenaky a profeny)	11
2.2.2.5	Oxikamy	14
2.2.2.6	Koxiby	14
2.3	Degradace látek v životním prostředí	15
2.3.1	Pokročilé oxidační procesy	17
2.3.1.1	Plazma.....	18
2.3.1.2	Generace plazmatu v kapalném prostředí.....	18
2.3.1.3	Aplikace pokročilých oxidačních procesů na ibuprofen.....	19
2.4	Stanovení nesteroidních protizánětlivých látek ve vodách	19
2.4.1	Chromatografie.....	19
2.4.1.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	20
2.4.2	Hmotnostní spektrometrie	21
2.4.2.1	Elektronová a chemická ionizace	21
2.4.2.2	Elektrosprej.....	21
2.4.2.3	MALDI – Matrix-assisted laser desorption ionization	22
2.4.2.4	Kvadrupólový analyzátor.....	22
2.4.2.5	Iontová past.....	23
2.4.2.6	Detektory v hmotnostní spektrometrii	24
3	Experimentální část.....	25
3.1	Použité chemikálie	25
3.2	Použitý standard.....	25
3.3	Použité plyny.....	25

3.4	Použité přístroje a pomůcky	25
3.5	Použitý software pro zpracování dat	26
3.6	Použitá aparatura	26
3.6.1	Plazmový reaktor	26
3.6.2	Aparatura pro stanovení ibuprofenu	27
3.7	Příprava roztoků	30
3.7.1	Příprava zásobních roztoků ibuprofenu	30
3.7.2	Příprava kalibračních roztoků ibuprofenu	30
3.7.3	Příprava modelových roztoků ibuprofenu	31
3.7.3.1	Příprava modelového roztoku ibuprofenu v neutrálním prostředí. 31	
3.7.3.2	Příprava modelového roztoku ibuprofenu v zásaditém prostředí .. 31	
3.7.3.3	Příprava modelového roztoku ibuprofenu v kyselém prostředí..... 31	
3.8	Provedení experimentu	31
4	Výsledky a diskuze	33
4.1	Kalibrační řada	33
4.1.1	Mez detekce a mez stanovitelnosti	33
4.2	Posouzení vlivu polarity hlavní elektrody při degradaci ibuprofenu	34
4.3	Aplikace plazmatu na modelové roztoky ibuprofenu	35
4.3.1	Modelový roztok ibuprofenu v neutrálním prostředí	35
4.3.2	Modelový roztok ibuprofenu v zásaditém prostředí	36
4.3.3	Modelový roztok ibuprofenu v kyselém prostředí	37
4.3.4	Srovnání degradace ibuprofenu v jednotlivých prostředích..... 38	
5	Závěr	41
6	Zdroje	42
7	Seznam použitých zkratk.....	45

1 Úvod

Důsledkem rozvoje farmaceutického průmyslu ve druhé polovině 20. století dochází ke stále vyšší produkci a spotřebě léčivých přípravků. Lidské tělo nedokáže léčiva zcela odbourat, proto dochází k jejich částečnému vyloučení nebo vyloučení jejich metabolitů do odpadních vod. Čistírny odpadních vod nedokáží spolehlivě eliminovat tyto mikropolutanty, následkem čehož můžou být těmito látkami kontaminovány podzemní i povrchové vody. V menší míře se také mohou tato rezidua dostat i do půdy [1]. Mezi nejrozšířenější léčiva moderní doby patří nejen nesteroidní protizánětlivé látky, ale také antibiotika, analgetika antiepileptika aj., proto se v odpadních vodách nacházejí v nejvyšších koncentracích. Dalšími polutanty, které se dostávají do odpadních vod mohou být například herbicidy, insekticidy či kosmetické přípravky. Jelikož nejsou známy účinky těchto látek při dlouhodobé expozici na člověka, je třeba vyvíjet nové, účinnější metody k jejich odbourávání. Jednou z těchto metod mohou být pokročilé oxidační procesy [2, 3].

Aplikace pokročilých oxidačních procesů pro čištění vody od mikropolutantů je zatím ve velké míře jen ve fázi výzkumu. Mezi pokročilé oxidační procesy se řadí také plazma, které zažilo větší rozvoj až koncem 90. let 20. století. Plazma by představovalo šetrný způsob degradace polutantů. Při procesu degradace polutantů je však nutné sledovat také vznikající meziprodukty, které by mohly mít ve větších koncentracích rovněž neblahý vliv na životní prostředí [3].

Vhodným analytem k výzkumu degradace pomocí plazmatu byl vybrán ibuprofen, jakožto zástupce skupiny nesteroidních protizánětlivých látek. Ibuprofen je dostupný, velice rozšířený léčivý přípravek, který se při vstupu i výstupu čištění objevuje ve vysokých koncentracích. Ibuprofen je také velice prozkoumaná látka, která je dobře stanovitelná analytickými metodami i v relativně nízkých koncentracích [4].

Tato práce objasňuje samotnou možnost degradace ibuprofenu ve vodě pomocí plazmatu a ovlivnění účinnosti degradace v různých prostředích a v různých uspořádáních plazmatického generátoru. Dále se tato práce také věnuje návrhu dalších možných postupů a experimentů, které by vedly k zisku dalších poznatků týkající se této problematiky.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Léčiva

Pod pojmem léčivo se rozumí jakákoliv chemická látka, která pozitivně interaguje se živým organismem. Vědní obor zabývající se studiem léčiv se nazývá farmakologie. Farmakologie se dále dělí na farmakokinetiku a farmakodynamiku. Podle zákona č.378/2007 Sb. je jako léčivo považována [5, 6]:

a) Léčivá látka – přírodní nebo synteticky vyrobená látka, která disponuje farmakologickým, imunologickým účinkem nebo případně látka ovlivňující metabolismus [5].

b) Léčivý přípravek – přípravky v určité lékové formě získané technologickým zpracováním léčivých látek. Tyto přípravky jsou přímo určené lidem, popřípadě zvířatům [5].

2.1.1 Farmakokinetika a farmakodynamika

Farmakokinetika popisuje cestu léčivé látky organismem. Tento děj lze kvantifikovat časovým průběhem koncentrací léčiv a jejich metabolitů v biologických tekutinách. Pohyb léčivé látky v organismu je popisován pomocí čtyř základních dějů [4, 6, 7].

a) Absorpce – léčivá látka se dostává z místa aplikace do krevního oběhu. Proces absorpce neprobíhá, pokud je látka podána intravenózně, tj. přímo do krve [4, 6].

b) Distribuce – léčivo se dostává z krevního řečiště do tkání. Distribuce je silně ovlivňována bílkovinami krevní plazmy, které vytváří s léčivem silné vazby. Pouze nevázané léčivo podléhá dalším farmakokinetickým procesům [4, 6].

c) Metabolismus – molekula léčiva je vystavena chemické přeměně. V několika krocích dochází k biotransformaci původní látky na neaktivní metabolit [4, 6].

d) Exkrece – dojde k vyloučení metabolitu z těla. Léčiva jsou nejčastěji vylučována ledvinami, plicemi či přes trávicí soustavu [4, 6].

Farmakodynamika se zabývá mechanismy působení léčiva na organismus a změnami v organismu vyvolané účinkem léčiva [4, 6, 7].

2.2 Nesteroidní protizánětlivé látky

Nesteroidní protizánětlivé léky patří k nejužívanějším předepisovaným i volně prodejným lékům na světě. NSAIDs disponují antipyretickým a analgetickým účinkem, díky čemuž tlumí bolest a snižují horečku bez narušení normální tělesné teploty. Nejdůležitější funkcí NSAIDs je však protizánětlivý (antiflogistický) účinek. Přestože jsou tyto látky velice efektivní v boji se zánětlivými onemocněními, jejich nadužívání může způsobit celou řadu vedlejších účinků. Drtivá většina těchto léků je užívána perorálně, díky čemuž dochází při zvýšeném užívání těchto látek k poškození trávicího traktu a vzniku žaludečních vředů. S nadužíváním NSAIDs se rovněž pojí zvýšené riziko koronárních příhod, výjimečně také mohou nastat poruchy sluchu, jako je tinitus. Před operací je nutné tyto látky alespoň týden dopředu vysadit, protože způsobují

zvýšenou krvácivost. Tato skupina léčiv by neměla být podávána ve větší míře malým dětem, neboť mohou vyvolat tzv. Reyeův syndrom, který způsobuje akutní jaterní selhání [8, 9, 10].

2.2.1 Historie a vývoj nesteroidních protizánětlivých látek

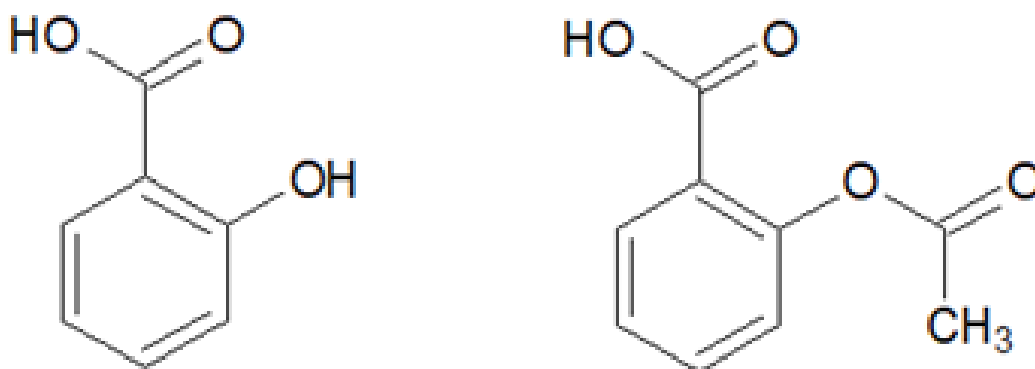
Jako první analgetikum a antipyretikum byla použita vrbová kůra a vrbové listy, které byly využívány ke snižování bolesti a horečky již ve starověkém Egyptě. Tyto účinky jsou způsobeny glykosidem salicinem, který se v těle hydrolýzou a následnou oxidací přetváří na kyselinu salicylovou. Ve druhé polovině 19. století již byla Hermannem Kolbem kyselina salicylová uměle syntetizována a na sklonku 19. století byl německou firmou Bayer syntetizován derivát této kyseliny, kyselina acetylsalicylová, která se jako efektivní antiflogistikum využívá dodnes pod obchodním názvem Aspirin. Na začátku druhé poloviny 20. století byla vyvinuta látka ibuprofen, která se dodnes řadí k neprodávanějším antiflogistikům na světě [4].

2.2.2 Klasifikace nesteroidních protizánětlivých látek

Nesteroidní protizánětlivé látky je možno klasifikovat více způsoby, například podle mechanismu účinku nebo chemické struktury. V této práci jsou NSAIDs rozřazeny podle chemické struktury. Patří sem salicyláty, pyrazolidindiony, fenamáty, deriváty arylalkanových kyselin, oxikamy a koxiby [4].

2.2.2.1 Salicyláty

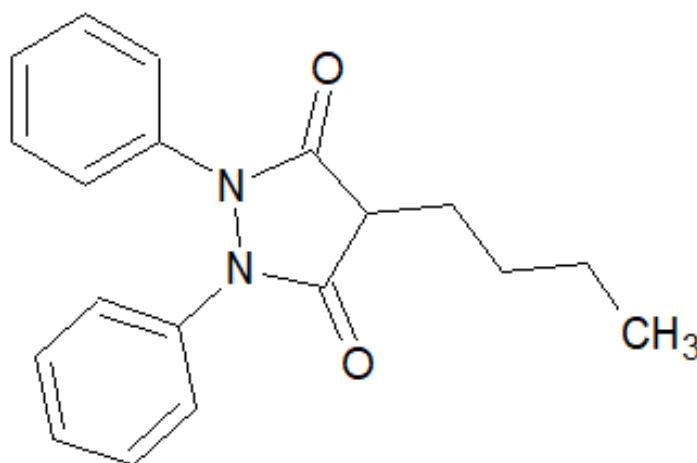
Do této skupiny patří kyselina salicylová a její deriváty. Kyselina salicylová má antipyretické a analgetické účinky a při vyšším množství i účinky antiflogistické, ale při vnitřním užití působí silně dráždivě, což může vést k poškození trávicího traktu. V dnešní době se využívá kyselina salicylová pouze zevně ve formě mastí, či roztoků při léčbě kožních nemocí. Významnější antiflogistické látky jsou deriváty kyseliny salicylové, zejména kyselina acetylsalicylová. Kyselina acetylsalicylová má rovněž dobré analgetické a antipyretické účinky, ale účinky antiflogistické se projevují až při požití většího množství této látky, což opět může vést k nežádoucím účinkům, jako jsou poškození trávicího traktu, zvýšení krvácivosti, či poruchy sluchu. Kyselina acetylsalicylová, která byla vyvinuta již na konci 19. století, je stále využívána zejména pro své analgetické účinky. V lékárnách se prodává pod obchodním názvem Aspirin, či acylpyrin [4].



Obrázek 1: Strukturní vzorce kyseliny salicylové (vlevo) a kyseliny acetylsalicylové

2.2.2.2 Pyrazolidindiony

V dnešní době se již pyrazolidindiony v podstatě neužívají. Chemická struktura, která tvoří základ těchto antiflogistických látek je 1, 2-difenylypyrazolidin-3, 5-dion. Fenylové funkční skupiny v polohách 1 a 2 jsou nezbytné pro zachování účinku těchto látek. Pro zachování kyselého charakteru je také nutná přítomnost vodíkového atomu v poloze 4 pyrazolidinového kruhu. Pyrazolidindiony podléhají oxo-enol tautomerii, což rovněž zajišťuje kyselost látky. Nejznámější zástupce těchto látek je fenylobutazon, který byl syntetizován již v roce 1946. Kvůli četnosti nežádoucích vedlejších účinků a lehké toxicitě se fenylobutazon užívá velice v malé míře a to zevně. Fenylobutazon je však v některých státech užíván ve veterinárním lékařství, zejména u koní, někdy také psů. Dalšími zástupci pyrazolidindionů jsou oxyfenbutazon a kebuton [4, 11].

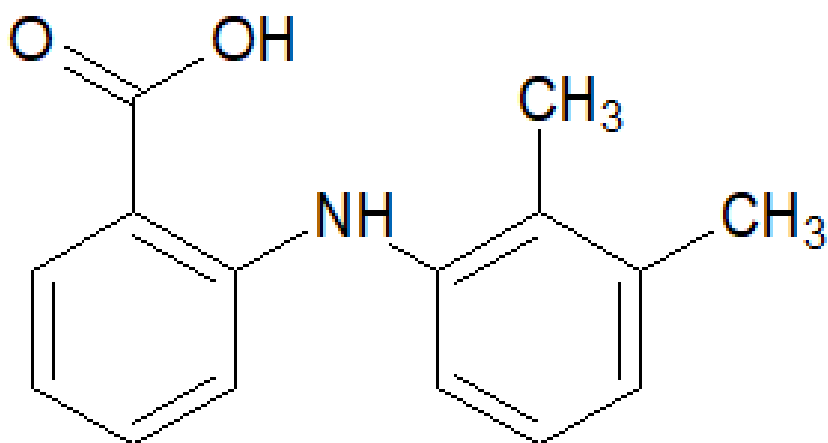


Obrázek 2: Strukturní vzorec fenylobutazonu

2.2.2.3 Deriváty kyseliny anthranilové

Chemická struktura derivátů kyseliny anthranilové je velice podobná salicylátům, jsou to jejich izostery. Analgetické, protizánětlivé a také antipyretické účinky vykazují tzv. fenamáty, což jsou N-fenyl deriváty kyseliny anthranilové. Fenamáty vznikají substitucí vodíku

přítomného na amino skupině fenylovou skupinou. Právě přítomnost tohoto fenylu podmiňuje účinek těchto látek. Účinnost látky může být ještě navýšena substitucí hydrofobní skupiny do polohy 3 v anilinové části molekuly, takovou substitucí může vzniknout například flufenamová kyselina, nebo do polohy 2 a 3 (někdy také 6), kdy může vznikat mefenamová či tolfenamová kyselina. Fenamáty nejsou vhodné k vnitřnímu užívání. Oproti salicylátům jsou výrazněji toxické, mohou silně poškodit gastrointestinální trakt například tvorbou žaludečních vředů. Pro své výrazné antiflogistické účinky se využívají zevně ve formě mastí a gelů. Kyselinu mefenamovou lze v nízkých koncentracích užívat i vnitřně, avšak projevují se vedlejší účinky ve formě průjmů či alergických reakcí [6].



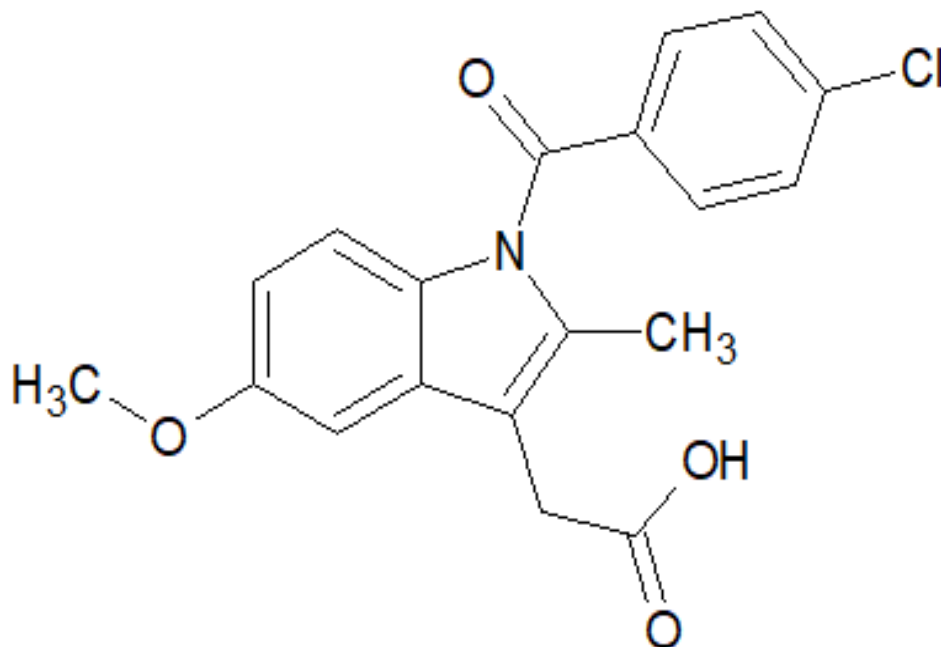
Obrázek 3: Strukturní vzorec fenylbutazonu

2.2.2.4 Deriváty arylalkanových kyselin (fenaky a profeny)

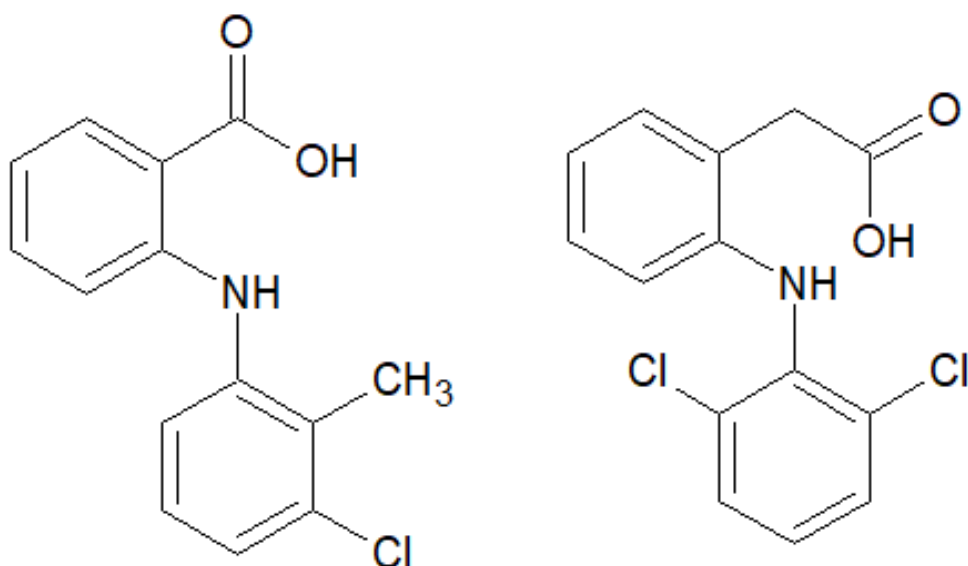
Arylalkanové kyseliny patří v dnešní době k nejvíce užívaným léčivům s protizánětlivými účinky. Mezi deriváty arylalkanových kyselin se řadí dvě významné skupiny antiflogistik a těmi jsou deriváty aryloctové kyseliny, tzv. fenaky a vůbec nepoužívanější antiflogistika deriváty 2-arylpropionové kyseliny, tzv. profeny [4].

Již v roce 1963 byla syntetizována látka ze skupiny fenaků indomethacin, v 60. a 70. letech se používal jako velice kvalitní antiflogistikum hlavně při léčbě revmatických onemocnění. Hlavní přínos této látky však byl v podnícení snahy vyrobit další protizánětlivé látky modifikací struktury indomethacinu nejlépe se sníženými vedlejšími účinky, neboť indomethacin vykazoval negativní účinky jak na gastrointestinální trakt, tak i na nervovou soustavu. Kvůli těmto závažným nežádoucím účinkům se indomethacin používá pouze při vážných akutních onemocněních, jakým je například perikarditida, a to pouze krátkodobě ve formě čípků. Modifikací chemické struktury indomethacinu byly syntetizovány látky sulindak a tolmentin, které se sice vyznačují menšími negativními dopady na trávicí soustavu, avšak mají také snížené antiflogistické účinky oproti indomethacinu. Dnes nepoužívanější zástupce ze skupiny fenaků je látka nazývána diklofenak. Tato látka se svou chemickou strukturou velmi blíží fenamátům. Diklofenak je vlastně vyšším homologem fenamátů. Stejně jako indomethacin i diklofenak vykazuje silné antiflogistické účinky. Rovněž je taky dobrým analgetikem

a mírným antipyretikem. Diklofenak lze užívat proti celé řadě zánětlivých onemocnění, například při zánětu kloubů v různých lékových formách (masti, čípky, tablety). Jeho nežádoucí účinky jsou poměrně mírné, ale i tato látka může mít při dlouhodobém užívání neblahý vliv na gastrointestinální trakt či nervovou soustavu [4].



Obrázek 4: Strukturní vzorec indomethacinu



Obrázek 5: Podobnost kyseliny tolfenamové ze sk. fenamátů (vlevo) a diklofenaku ze sk. fenaků

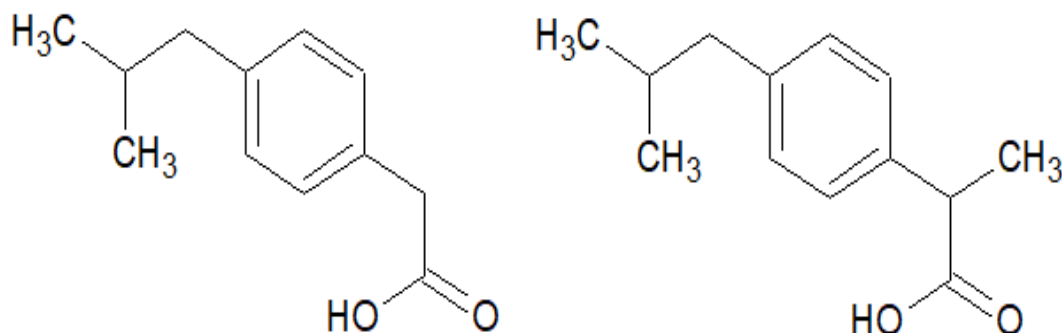
Profeny jsou dnes vůbec nejpoužívanější skupinou antiflogistik. Chemickou předlohou těchto látek je ibuprofen. Ibuprofen vznikl substitucí vodíku na α -uhlíku ibuprofenu methylovou skupinou. Ibuprofen měl sice také dobré antiflogistické účinky, avšak rovněž způsoboval vážné

poškození jater. Substitucí vodíku za methyl byl tento negativní účinek odstraněn. Ibuprofen se používá jako běžné analgetikum, úspěšně je nasazován proti bolesti zubů, hlavy nebo proti bolestem doprovázející menstruaci. Podle stupně bolesti se nasazuje 200–400 mg účinné látky s odstupem aspoň 6 hodin. Pro antiflogistický účinek je však nutné látku navýšit minimálně na 600 mg. Ibuprofen je poměrně bezpečnou látkou, po poradě s lékařem ho mohou využívat i těhotné ženy do konce druhého trimestru stejně jako kojící matky, protože ibuprofen proniká do mateřského mléka jen ve velmi omezené míře [4].

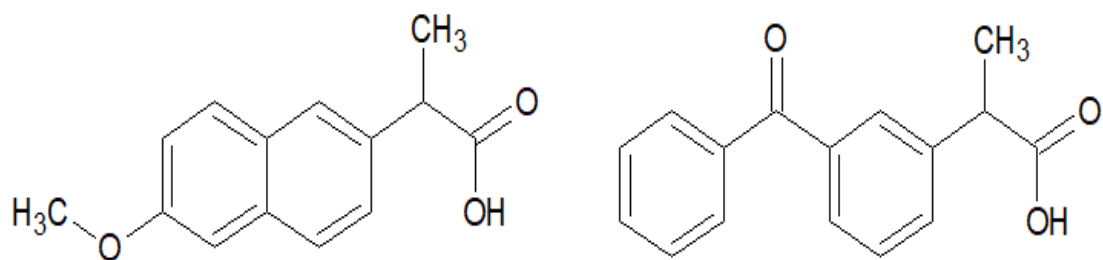
Ibuprofen je v České republice po paracetamolu nejvíce využívaným analgetikem. Na počátku milénia se pohybovala jeho spotřeba na hranici 9 milionů prodaných balení za rok, v roce 2003 bylo prodáno dokonce 10,5 milionů balení. Od roku 2003 však spotřeba ibuprofenu spíše klesá. V roce 2009 již byla spotřeba opět pod hranicí 10 milionů balení. V roce 2018 bylo do lékáren a dalších zdravotnických zařízení dodáno přibližně 9,5 milionů balení [12, 13].

Ačkoliv patří ibuprofen mezi nejbezpečnější antiflogistika, vyznačujícími se nízkými nežádoucími účinky, tak také tato látka může mít neblahý vliv na gastrointestinální trakt při dlouhodobém užívání. Pokud je ibuprofen kombinován s kyselinou acetylsalicylovou, je riziko poškození gastrointestinálního traktu mnohonásobně vyšší. V roce 2014 bylo zjištěno, že při dlouhodobém užívání ibuprofenu v dávce vyšší než 2400 mg za den se výrazně zvyšuje počet kardiovaskulárních onemocnění [14].

Ze skupiny profenů se kromě ibuprofenu využívá ve velké míře také naproxen. Stejně jako ibuprofen i naproxen má dobré antipyretické, analgetické a antiflogistické účinky. Vyznačuje se poměrně dlouhým biologickým poločasem, proto ho lze užívat jen jednou denně. Využívá se stejně jako ibuprofen při běžných bolestech, popřípadě proti bolesti pocházející z migrény. Další významnou látkou je ketoprofen, ten je využíván jako účinné analgetikum a antiflogistikum pro léčbu bolesti a zánětu svalů nebo kostí. U všech jmenovaných profenů existuje více lékových forem. Nejužívanější formou jsou tablety určené pro perorální podání, ale existují také různé masti, gely nebo čípky [4].



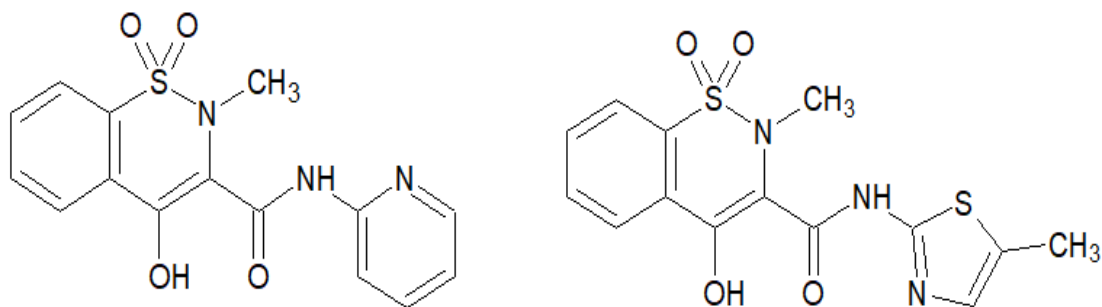
Obrázek 6: Předloha ibuprofenu ibufenak (vlevo) a ibuprofen



Obrázek 7: Strukturní vzorce naproxenu (vlevo) a ketoprofenu

2.2.2.5 Oxikamy

Oxikamy byly zavedené do klinické praxe až na sklonku 70. let, první látka byla nazvaná piroxikam. Všechny oxikamy se vyznačují dlouhým biologickým rozpadem, a to i ve srovnání s naproxenem, proto se dává pouze jednou za den nebo za dva dny, a to v dávce 10–20 mg. Účinek podmiňuje přítomnost methylové skupiny na atomu dusíku v základním cyklu. Prvním syntetizovaným oxikamem byl již zmíněný piroxikam, ten se již v dnešní době využívá méně, kvůli velkému množství nežádoucích účinků, jakými jsou například kožní problémy, zrychlený pulz a poškození gastrointestinálního traktu. Z tohoto důvodu byla syntetizována látka meloxikam, u které se objevují nežádoucí účinky poměrně v malé míře. Meloxikam je využíván proti kloubním onemocněním. Další látkou ze skupiny oxikamů je lornoxikam, ten se liší od ostatních oxikamů krátkým biologickým rozpadem a velmi rychlým analgetickým účinkem. Nežádoucí účinky jsou stejně jako u meloxikamu poměrně nízké [4, 6, 11].

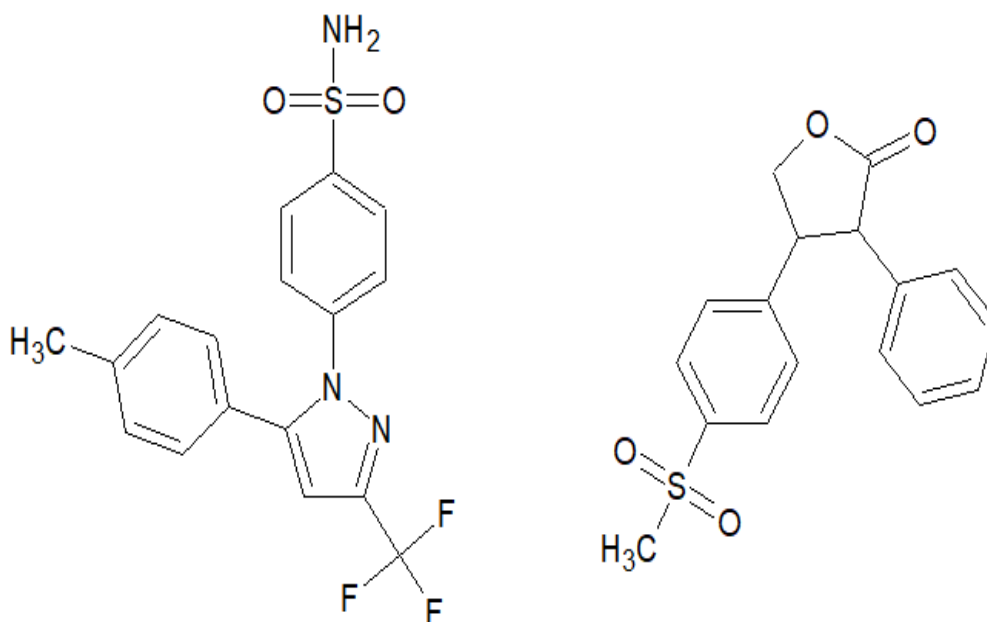


Obrázek 8: Strukturní vzorce piroxikamu (vlevo) a meloxikamu

2.2.2.6 Koxiby

Koxiby patří mezi nejnovější nesteroidní antiflogistika. Mají dobré analgetické, antipyretické i antiflogistické účinky. Na rozdíl od ostatních NSAIDs jsou u koxibů nežádoucí účinky na gastrointestinální trakt zcela eliminovány, díky čemuž byly na konci 90. let zavedeny látky celekoxib a rofekoxib. Celekoxib se dodnes využívá k léčbě revmatoidní artritidy, avšak rofekoxib vydržel na českém trhu jen do roku 2004, protože u něj byly zjištěny velice vážné

nežádoucí kardiovaskulární účinky. V roce 2000 byl uveden do praxe etorikoxib, který se využívá v léčbě osteoartrózy [4, 11].

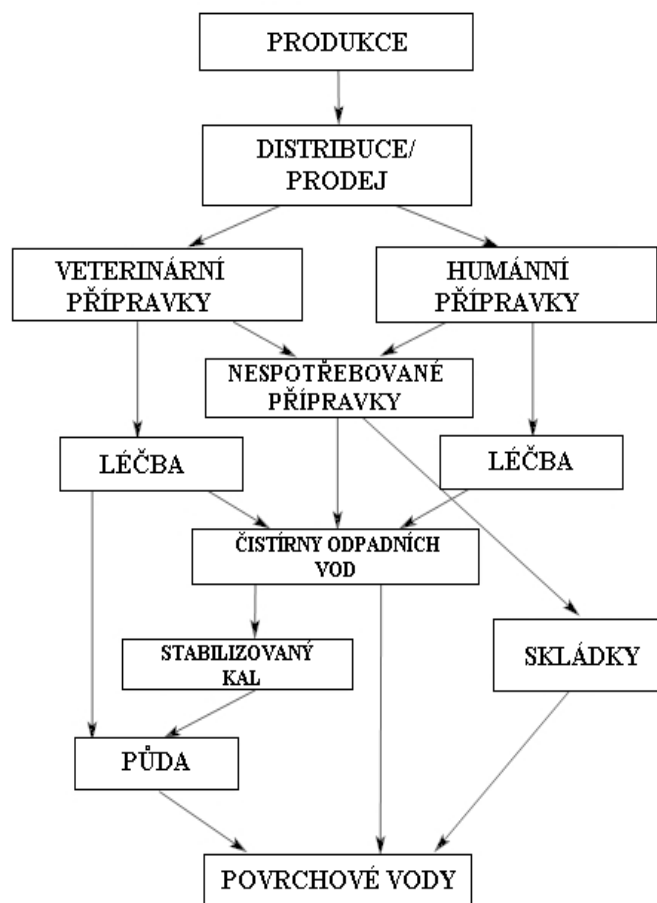


Obrázek 9: Strukturní vzorce celecoxibu (vlevo) a rofecoxibu

2.3 Degradace látek v životním prostředí

Užívání léčiv zaznamenalo v moderní době obrovský nárůst. V roce 2007 činila jen v ČR spotřeba základních analgetik a antiflogistik, jakými jsou paracetamol a ibuprofen, téměř 26 milionů balení. V roce 2018 bylo paracetamolu a ibuprofenu dodáno do lékáren a dalších zdravotnických zařízení méně, přibližně 24 milionů balení za rok, avšak tento pokles je do značné míry způsoben zvyšující se popularitou léčiv obsahující jiné účinné látky [1, 13].

Koncem 90. let a začátkem nového milénia počaly obavy o znečištění životního prostředí, zejména pak povrchové vody různými lidskými nebo veterinárními farmaky. Léčiva nejsou v těle dokonale zpracována, díky čemuž část léků v nezměněné podobě nebo v podobě jejich metabolitů opouštějí tělo vylučovací soustavou do odpadních vod. Čistírna odpadních vod nedokáže spolehlivě všechny tyto metabolity zachytit, díky čemuž mohou tyto látky kontaminovat podzemní i povrchové vody, což může mít negativní dopad nejen na vodní živočichy, ale také na zdraví člověka. V menší míře se také mohou tato rezidua dostat skrz stabilizované kaly do půdy [1].



Obrázek 10: Cesta léčiv a jejich reziduí do životního prostředí [1]

Proces čištění odpadní vody spočívá v zisku čisté vody o požadované kvalitě. Odpadní voda je přiváděna do čistíren odpadních vod, kde je pomocí fyzikálních, chemických a biologických procesů vyčištěna do takové míry, aby mohla být opět vypuštěna do ekosystému [15].

Ačkoliv jsou čistírny odpadních vod vysoce účinné a sofistikované zařízení, nedokáží zcela eliminovat mikropolutanty, které jsou přiváděny do čistíren spolu s odpadní vodou. Těmito mikropolutanty mohou být také léčiva, například antibiotika, antiepileptika, protizánětlivé látky, analgetika, beta-blokátory atd. Tyto polutanty se však mohou nalézat i v povrchových vodách, většinou v oblastech ležících blízko čistíren odpadních vod. Například v severní Itálii v povrchových vodách řek Pádu a Lambru byly detekovány látky enalapril a bezafibrate, i když v poměrně nízké koncentraci 57 ng/l, resp. 0,54 ng/l [2, 16].

Pro zjištění účinnosti eliminace těchto mikropolutantů je třeba změřit průměrné koncentrace těchto látek při vstupu do čistírny vod a při výstupu podle *Rovnice 1*. Účinnost odstranění nesteroidních protizánětlivých látek se značně liší. Účinnost odstranění ibuprofenu a naproxenu je 74,2 % resp. 81,6 %. Oproti tomu účinnost eliminace diklofenaku a ketoprofenu je pouze 34,6 %, resp. 31,1 %. Ačkoliv je míra odstranění ibuprofenu v čistírnách odpadních vod poměrně vysoká, jeho počáteční koncentrace při vstupu je ze všech měřených léčiv téměř

nejvyšší a při výstupu z čistírny je koncentrace ibuprofenu dokonce nejvyšší, činila průměrně 3,48 µg/l [2].

$$\eta = 100 - \frac{c_{\text{výstup}}}{c_{\text{vstup}}} \cdot 100, \quad (1)$$

kde c_{vstup} značí koncentraci látky při vstupu do čistírny a $c_{\text{výstup}}$ značí koncentraci látky při výstupu [2].

Jelikož čistírny odpadních vod nedokážou zcela tyto mikropolutanty odstranit, je třeba vyvíjet nové metody pro jejich nejlépe úplnou eliminaci, protože dlouhodobé dopady těchto látek, popřípadě jejich reziduí, při pravidelné expozici není znám. Těmito metodami mohou být také pokročilé oxidační procesy [2, 3].

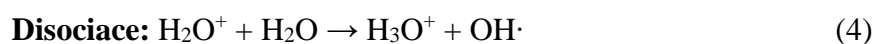
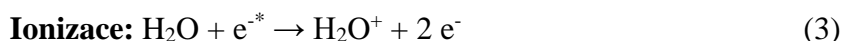
2.3.1 Pokročilé oxidační procesy

Pokročilé oxidační procesy (AOP) byly poprvé využívány již na konci 19. století, většího rozvoje se dočkaly až začátkem druhé poloviny 20. století. V dnešní době se nahlíží na pokročilé oxidační procesy jako na technologie, které mohou sloužit zejména pro ošetření pitné a odpadní vody od různých polutantů. Mezi tyto polutanty patří zejména řada léčiv a jejich reziduí, pesticidy, herbicidy, kosmetické přísady aj. [3].

AOP spočívají ve vzniku radikálů, které jsou velmi nestabilní, a proto vysoce reaktivní. Tyto radikály reagují s okolními částicemi, oxidují je. Ve vodném prostředí těmito radikály jsou například $\text{OH}\cdot$, $\text{O}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$ ad., právě hydroxylové radikály ($\text{OH}\cdot$) disponují největším oxidačně-redukčním potenciálem. Při dostatečně velké koncentraci jsou hydroxylové radikály schopny zoxidovat nežádoucí organické polutanty až na oxid uhličitý a vodu [3, 17].

AOP je možné dělit podle způsobu vzniku radikálů na fotochemické, chemické a fyzikální a v neposlední řadě také na procesy plazmatické. Mezi fotochemické metody se řadí UV fotolýza, oxidace za pomoci ozonu a peroxidu vodíku za účasti UV záření aj. Mezi chemické metody patří například Fentonova reakce a mezi fyzikální sonolýza. Plazmatické technologie pracují s nízkoteplotním plazmatem. Všechny tyto procesy mají společný první iniciační krok, kdy dochází ke vzniku radikálů za pomoci UV záření, elektrického pole nebo rázových vln. Mimo radikály vznikají také další chemicky aktivní látky, např. H_2O_2 , které také mohou podporovat degradaci organických polutantů [17].

Vznik hydroxylových radikálů, vodíkových radikálů a vysokoenergetických elektronů při disociačních a ionizačních procesech ve vodném prostředí za použití plazmatického generátoru jsou znázorněny v rovnicích (2–4) [17].



2.3.1.1 *Plazma*

Plazma je jedním ze skupenství hmoty. Ve vesmíru tvoří až 99 % hmoty, v přírodě může plazma vznikat úderem blesku a vyskytuje se také v polární záři. V každodenním životě se plazma vyskytuje v neonových reklamách nebo ve výbojkách [18].

Plazma vzniká ionizací plynu. Tento ionizovaný plyn vykazuje určité vlastnosti a je tvořen třemi druhy částic – neutrálními molekulami, kladně nabitými částicemi (kationty) a záporně nabitými částicemi (anionty a elektrony). Plazma je kvazineutrální ionizovaný plyn nabitých a neutrálních částic, který vykazuje kolektivní chování. Díky přítomnosti nabitých částic a jejich fluktuaci v systému je plazma schopno generovat elektrické a magnetické pole a reagovat na ně. V celém objemu se však plazma projevuje jako elektroneutrální, protože počet záporně nabitých a kladně nabitých částic je stejný. Plazma je vodivé a díky svému kolektivnímu chování nemá sklon přizpůsobovat se vnějším vlivům [18, 19].

Plazma lze rozlišit na plazma vysokoteplotní a nízkoteplotní. Neexistuje však přesná hraniční teplota mezi těmito dvěma stavy. Vysokoteplotní plazma obvykle dosahuje teploty minimálně 10^6 K a vyznačuje se vysokým stupněm ionizace, která se blíží až 100 %. Vysokoteplotní plazma se vyskytuje například v řízených termonukleárních syntézách. Nízkoteplotní plazma může dosáhnout až teploty 10^5 K, stupeň ionizace je nižší, asi 1–10 %. Nízkoteplotní plazma se vyskytuje například v zářivkách [18, 19].

2.3.1.2 *Generace plazmatu v kapalném prostředí*

Problém generace plazmatu v kapalném prostředí (obvykle vodném) je předmětem intenzivního zkoumání od konce 90. let 20. století. Oproti plynům je vznik plazmatu v kapalném prostředí obtížnější, protože je třeba dosáhnout mnohem vyššího napětí. V dnešní době je však známo několik různých elektrodových uspořádání pro tvorbu plazmatu přímo ve vodném prostředí [20, 21].

Zapálení výboje ve vodném prostředí popisují dvě teorie. Elektronová teorie vysvětluje vznik plazmatu přímou ionizací a disociací molekul vody vlivem vysokého elektrického pole. Podle tepelné (bublinové) teorie je kapalina zahřívána prostupujícím elektrickým proudem, což vede k vypařování a vytvoření mikrobublin, ve kterých dojde k zapálení výboje [20].

Zapálení výboje způsobuje několik podstatných chemických a fyzikálních procesů. K nejdůležitějším chemickým procesům patří tvorba radikálů a dalších částic s vysokým oxidačně-redukčním potenciálem. V případě vodného roztoku jsou to například hydroxylové a vodíkové radikály, peroxid vodíku, ozon aj. Mezi fyzikální procesy patří například vznik UV záření a rázových vln. Všechny tyto procesy nacházejí široké využití například při čištění vody, sterilizaci nebo úpravě vzorků [20].

Vývoj plazmatu může být do značné míry ovlivněn vodivostí roztoku, proto se obvykle přidává do vodného prostředí elektrolyt, například chlorid sodný, který usnadňuje zapálení výboje. Nejstabilnější výboj je pozorován při vodivosti asi $500 \mu\text{S/cm}$. Dalšími faktory ovlivňujícími generaci plazmatu mohou být polarita roztoku, oxidační stav elektrod aj. [20, 21].

2.3.1.3 Aplikace pokročilých oxidačních procesů na ibuprofen

Jak již bylo zmíněno, čistírny odpadních vod nedokáží zcela odstranit léčiva obsažená v odpadních vodách, proto se vyvíjejí nové metody k jejich odstranění. Mnohé studie prokázaly velice dobrou účinnost degradace ibuprofenu ve vodě za pomoci pokročilých oxidačních procesů. Všechny použité metody prokázaly degradaci ibuprofenu v rozmezí 85–100 % [15, 22, 23, 24, 25].

Při použití Fentonovy reakce probíhala degradace velice rychle. Během první minuty bylo degradováno 78 % ibuprofenu z roztoku, nicméně poté byla degradace výrazně zpomalena. Po dalších 14 minutách bylo celkem degradováno 85 % ibuprofenu z roztoku, poté byla reakce ukončena [23].

Degradace pomocí plazmatu se liší mnohými uspořádáními plazmatického generátoru. Velice účinná byla degradace pomocí nízkoteplotního plazmatu (NTP) typu dielectric-barrier discharge (DBD). Po 15 minutách bylo degradováno 85 % ibuprofenu z roztoku. V případě, kdy byl použit katalyzátor (Fe^{2+}) dosahovala degradace pomocí DBD reaktoru po 15 minutách dokonce 99 %. Při použití pulzního korónového výboje bylo dosaženo 86% degradace po 66 minutách. Nicméně toto uspořádání vyžadovalo znatelně nižší výkon (28 W) oproti předchozím (65 W). Jako vysoce účinná metoda se prokázalo uspořádání DBD v argonové atmosféře. Degradace ibuprofenu dosáhla 100% účinnosti po 15 minutách, avšak použitý výkon byl výrazně vyšší (200 W). Pomocí DBD uspořádání v argonové atmosféře byla testována také degradace diklofenaku při výkonu 150 W. Kompletní degradace diklofenaku za těchto podmínek bylo dosaženo po 30 minutách [22, 23, 24, 25].

2.4 Stanovení nesteroidních protizánětlivých látek ve vodách

Z důvodu zvýšeného příjmu NSAIDs začali odborníci zjišťovat, jestli tato léčiva, respektive jejich metabolity nezatežují více či méně životní prostředí. Byly vytvořeny metody pro stanovení NSAIDs, či jejich metabolitů v odpadních vodách, ale také v půdách. Tyto metody musí mít velice dobré meze detekce, protože koncentrace reziduí těchto léčiv je velice nízká. Při zvýšeném výskytu reziduí v odpadních vodách se koncentrace pohybuje řádově pouze v $\mu\text{g/l}$, ale i tato malá množství můžou mít neblahý vliv na životní prostředí [1].

Samotné analytické stanovení je prováděno zejména pomocí chromatografie, protože pomocí chromatografických metod lze dosáhnout nejnižších mezí detekce. Pro dosažení ještě lepších mezí detekce je možné využít tandemové spojení chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Nejčastěji se využívá vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), popřípadě ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie (UHPLC), ale úspěšně se využívá také chromatografie plynová. Vzácněji se pak využívají elektromigrační techniky, přičemž nejčastěji je zde využívána kapilární zónová elektroforéza [26].

2.4.1 Chromatografie

Chromatografické techniky jsou známy již více než 100 let, první chromatografické experimenty popsal ruský botanik Michail Semjonovič Cvet na schůzi botanické společnosti v roce 1903, ale masivnější rozvoj zaznamenaly až ve druhé polovině 20. století [28].

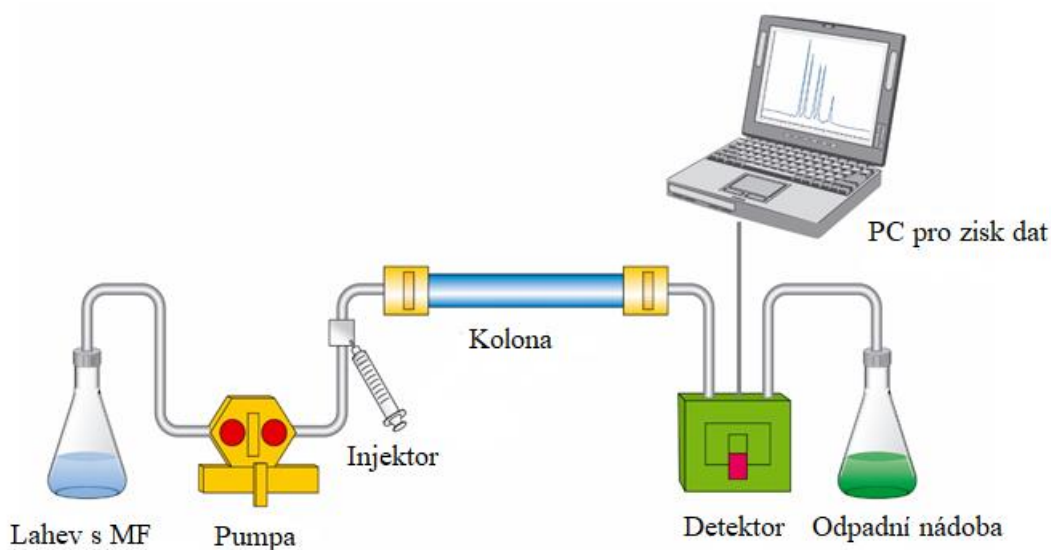
V dnešní době je chromatografie využívána v širokém spektru působnosti. Chromatografie je časově nenáročná a poskytuje vynikající meze detekce. Tato technika se skládá z chromatografického systému, který obsahuje fázi mobilní a fázi stacionární. Do toho systému je nadávkován vzorek a ten se podle afinit k jedné či druhé fázi rozdělí [26].

Chromatografie můžeme dělit podle různých kritérií, ale dnes se téměř výhradně využívají kolonové chromatografie, a to kapalinové i plynové. Pro stanovení reziduí protizánětlivých léčiv je obvykle využívána vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) [1].

2.4.1.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Tato technika se začala vyvíjet na přelomu 60. a 70. let. Její název pochází z anglického high performance liquid chromatography, odtud HPLC. Nejdůležitějšími částmi kapalinového chromatografu jsou zásobník mobilní fáze, odplyňovač mobilní fáze, čerpadlo, dávkovač a kolona. Na kolonu poté navazuje detektor, často se využívá tandemového spojení chromatografie s hmotnostní spektrometrií, čili funkci detektoru přebírá právě hmotnostní spektrometr. Signál z detektoru je zpracováván počítačem [26, 27].

Zásobních lahví s mobilními fázemi může být více. Čerpadla umožňují konstantní rychlost průtoku mobilní fáze a také mohou měnit složení mobilní fáze, v takovém případě se jedná o eluci gradientovou, pokud je složení mobilní fáze stále stejné, jedná se o eluci izokratickou. Odplyňovač zbavuje mobilní fázi rozpuštěného vzduchu, který by mohl způsobovat interference signálu. V dnešní době se využívá vakuového odplyňování. Vzorek je dávkován obvykle pomocí automatických dávkovačů (autosamplerů), popřípadě pomocí dávkovací smyčky či injektoru. Nejdůležitějším prvkem chromatografu je kolona, ve které se vzorek podle afinit k mobilní a stacionární fázi separuje. Poté se eluát dostává z kolony na detektor. Detektor detekuje chemický signál a ten je pak vyhodnocován pomocí počítače. Získaný záznam, který je poté zpracováván se nazývá chromatogram [26, 27, 28].



Obrázek 11: Schéma HPLC analýzy [29]

2.4.2 Hmotnostní spektrometrie

Hmotnostní spektrometrie je metoda založená na interakci iontů v elektromagnetickém poli. Ionty vznikají procesem zvaným ionizace. Mezi nejznámější ionizační techniky patří elektronová ionizace (EI), chemická ionizace (CI) pro plynné vzorky, pro kapalně vzorky se obvykle využívá elektrosprej (ESI), pro pevné vzorky se využívá techniky MALDI. Iontové zdroje se dělí podle množství dodané energie na tvrdé (velké množství dodané energie) a měkké (nižší množství dodané energie). Po ionizaci se ionty dostávají do hmotnostního analyzátoru, který separuje ionty podle hodnoty m/z , což je poměr hmotnosti a elektrického náboje. Využívají se zejména kvadrupólové analyzátory, iontové pasti a průletové analyzátory. Následuje detektor, který zaznamenává signál a počítač, který slouží ke zpracování dat. Hmotnostní spektrometrie je nejpřesnější metoda sloužící k určení hmotnosti různých látek, díky čemuž je možné určit také sumární vzorce sloučenin. Hmotnostní spektrometrie je také vysoce účinná identifikační metoda, proto se s oblibou využívá u tandemových technik, ať už s kapalinovou chromatografií (LC/MS) nebo s plynovou chromatografií (GC/MS) [26, 27, 30].

2.4.2.1 Elektronová a chemická ionizace

Elektronová ionizace se řadí mezi tvrdé techniky, protože je potřeba dodat poměrně velkou energii proudu elektronů. Elektrony poté předají tuto energii molekule analytu, díky čemuž dojde k fragmentaci analytu. Ionizace je prováděna v plynném skupenství. Výhoda této metody spočívá v zisku bohatého fragmentačního spektra, avšak může dojít až k úplné fragmentaci původního molekulového iontu, což má za následek ztrátu informace o molekulové hmotnosti analytu [30].

Chemická ionizace se naopak řadí mezi měkké ionizační techniky. V této metodě dojde nejprve k ionizaci reakčního plynu, který je vůči analytu v nadbytku. Nejčastěji se jako reakčního plynu využívá methanu. Tento plyn poté předá energii vzorku, tato energie je však výrazně nižší než při elektronové ionizaci, a proto nedojde k úplné fragmentaci výchozí molekuly, díky čemuž je zachována informace o molekulové hmotnosti analytu [30].

2.4.2.2 Elektrosprej

Ionizace elektrosprejem se řadí, podobně jako chemická ionizace, k měkkým ionizačním technikám čili vzniká méně fragmentů ve srovnání s tvrdými ionizačními technikami. Tento typ ionizace je relativně univerzální, je vhodný pro analýzu středně polárních molekul, ale také pro ionty. Na rozdíl od předchozích ionizačních technik pracuje elektrosprej za atmosférického tlaku, a proto se s oblibou využívá k tandemovému zapojení s kapalinovou chromatografií (HPLC-ESI-MS) [30].

Vzorek je rozpuštěný v rozpouštědle. Na hrot kladně nabitě kapiláry, do které vstupuje roztok s analytem, je vpuštěno vysoké napětí v rozsahu přibližně od 2–5 kV. Poté na ní začínají vznikat kladně nabitě kapičky aerosolu. Následně je za pomoci vysoké teploty rozpouštědlo postupně odpařováno, dochází ke zvyšování hustoty povrchového náboje v kapičce. Jakmile Coulombické odpudivé síly přesáhnou hodnotu povrchového napětí, dojde k roztržení kapičky. Tento jev se nazývá Coulombická exploze a jeho následkem se kapička rozpadne na spoustu

menších kapének. Tento proces se neustále opakuje až do uvolnění samotných iontů, které jsou dále vtaženy elektrickým polem do analyzátoru [30].

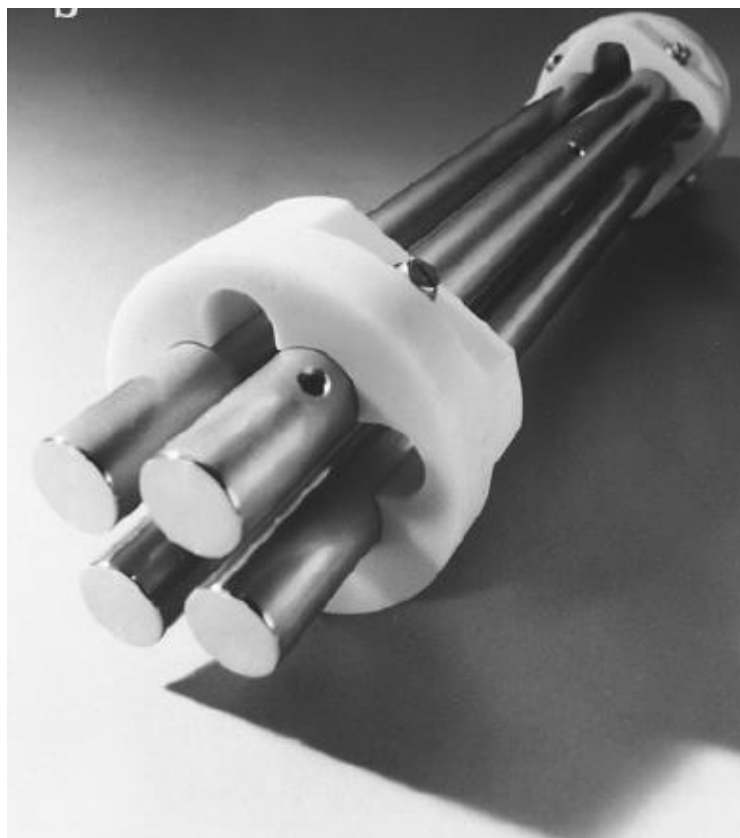
2.4.2.3 MALDI – Matrix-assisted laser desorption ionization

Mezi další měkké ionizační techniky se řadí ionizace laserem za účasti matrice (MALDI). Této techniky se využívá v drtivé většině případů při analýze vysokomolekulárních látek, jakými jsou například proteiny. MALDI může pracovat za nízkého tlaku, ale i za tlaku atmosférického. Před samotnou ionizací je nejprve analyt smíšen s pomocnou matricí (obvykle organická kyselina), která snadno absorbuje energii z laseru. Dojde k excitaci matrice, která následně ionizuje molekuly analytu. Vzniklé ionty analytu poté postupují dále do analyzátoru [30].

2.4.2.4 Kvadrupólový analyzátor

Velmi četně využívaným analyzátozem v hmotnostní spektrometrii je kvadrupól. Kvadrupól je soustava čtyř kovových tyčí. Ty jsou symetricky posazeny kolem osy trajektorie iontů, které byly vytvořeny v iontovém zdroji. Pomocí stejnosměrného a střídavého napětí je dosaženo opačné polarity sousedících tyčí. Dvě tyče jsou tedy záporně nabitě a dvě jsou kladně nabitě. Podle velikosti stejnosměrného napětí a amplitudy střídavého napětí se v určitém okamžiku dostanou dále k detektoru pouze ionty s určitou hodnotou m/z pohybující se po stabilní trajektorii. Ionty pohybující se po nestabilní trajektorii jsou zachyceny tyčemi kvadrupólu [30].

Kvadrupólový analyzátor je poměrně levné a jednoduché zařízení, které je s oblibou využíváno v tandemových technikách při spojení kapalinové nebo plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Je také možné využít tzv. trojitý kvadrupól, kde jsou zapojeny tři kvadrupóly za sebou. Tato vícestupňová analýza se vyznačuje velice dobrými mezemi detekce [30].

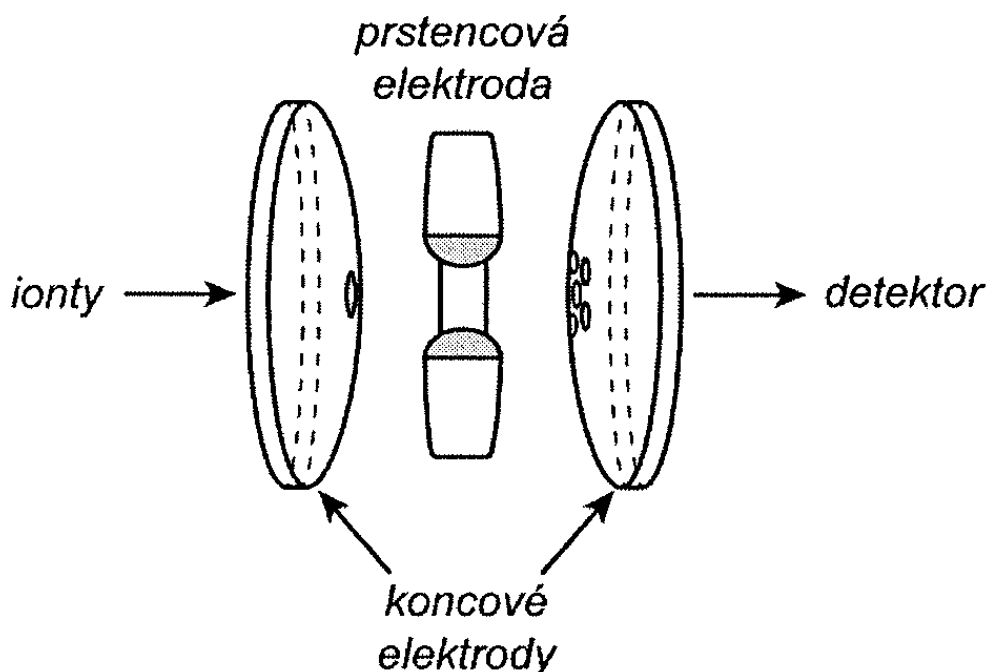


Obrázek 12: Kvadrupólový analyzátor [32]

2.4.2.5 Iontová past

Iontová past se skládá z jedné prstencové elektrody a ze dvou koncových elektrod. Pomocí napětového pulzu se dostávají ionty vstupním otvorem koncové elektrody do pasti. Uvnitř pasti ionty oscilují, protože na ně působí proměnlivé elektrické pole. Nejprve je na prstencovou elektrodu přiváděno střídavé napětí o malé amplitudě, díky čemuž se do pasti dostávají ionty o širokém rozsahu m/z . Ionty se uvnitř pasti pohybují po stabilních uzavřených trajektoriích, a proto dochází k jejich shromažďování. Postupným zvyšováním amplitudy střídavého napětí jsou ionty opět vypuzeny druhou koncovou elektrodou na detektor. Ionty se v pasti mohou také fragmentovat. Fragmentaci způsobuje kolize s atomy helia, které se do pasti zavádí kvůli tlumení oscilací v ose z , což napomáhá většímu rozlišení iontové pasti [30].

Iontová past nemá vysoké nároky na použitý tlak, proto je poměrně snadné tandemové zapojení s kapalinovou nebo plynovou chromatografií. Za pomoci iontové pasti je také možné provádět vícestupňovou hmotnostní spektrometrii. Tato metoda však nedosahuje takového rozlišení jako trojitý kvadrupól [30].



Obrázek 13: Schéma iontové pasti [26]

2.4.2.6 Detektory v hmotnostní spektrometrii

Funkcí detektoru je převod energie dopadajícího iontu na elektrický signál, který je snadno digitalizovatelný a zpracovatelný počítačem. V minulosti se k detekci iontů využívala fotografická deska, dnes se však nejvíce využívají elektronové násobiče, popř. Faradayův detektor [26, 32].

Elektronový násobič se skládá ze série elektrod, nazývané konverzní dynody. Poté co iont dopadne na povrch dynody, dojde k emisi elektronů jejichž počet je přímo úměrný energii dopadajících iontů. Vyražené elektrony jsou na své dráze urychleny elektrostatickým polem až dopadnou na další dynodu, kde vyrazí nové elektrony, tento proces se neustále opakuje (kaskádový efekt). Následkem tohoto efektu je vytvořen měřitelný elektrický proud [26, 32].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V experimentální části práce byly pomocí plazmatu ošetřeny modelové vzorky vody s obsahem ibuprofenu v neutrálním, kyselém a zásaditém prostředí. Poté byla srovnána účinnost degradace ibuprofenu v těchto prostředích. Stanovení ibuprofenu v modelových vzorcích bylo provedeno pomocí vhodné analytické metody. Touto metodou bylo tandemové spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (LC-ESI-MS).

3.1 Použité chemikálie

- Milli-Q voda
- Acetonitril – LC-MS Chromasoly®, for HPLC o čistotě $\geq 99,9$ %, Sigma Aldrich
- Chlorid sodný o čistotě ≥ 99 %, Sigma Aldrich
- Kyselina mravenčí o čistotě ≥ 98 %, Sigma Aldrich
- Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát o čistotě ≥ 98 % Lach-ner

3.2 Použitý standard

- Ibuprofen o čistotě ≥ 98 %, Sigma Aldrich

3.3 Použité plyny

- Dusík – 4.7 Siad Czech spol. s. r. o.
- Helium – 6.0 Linde gas a. s.

3.4 Použité přístroje a pomůcky

- pH metr InoLab WTW series, Nameko, ČR
- Analytické váhy HR-120-EC, a & D Instruments Ltd.
- Konduktometr/pH metr GRYP 107 LP
- Přístroj pro přípravu Milli-Q vody Millipore QGARD, Academic
- Kapalinový chromatograf Agilent 1100 Series
 - Kolona Kinetex C18 – délka 150 mm, vnitřní průměr 2,1 mm, velikost částic 2,6 μm
- Hmotnostní spektrometr Agilent Ion Trap 6320 LC/MS
- Plazmový reaktor v laboratoři plazmových procesů (návrh a výroba: doc. RNDr. František Krčma, Ph.D.), patentově chráněn

- Běžné laboratorní sklo
- Běžné laboratorní pomůcky

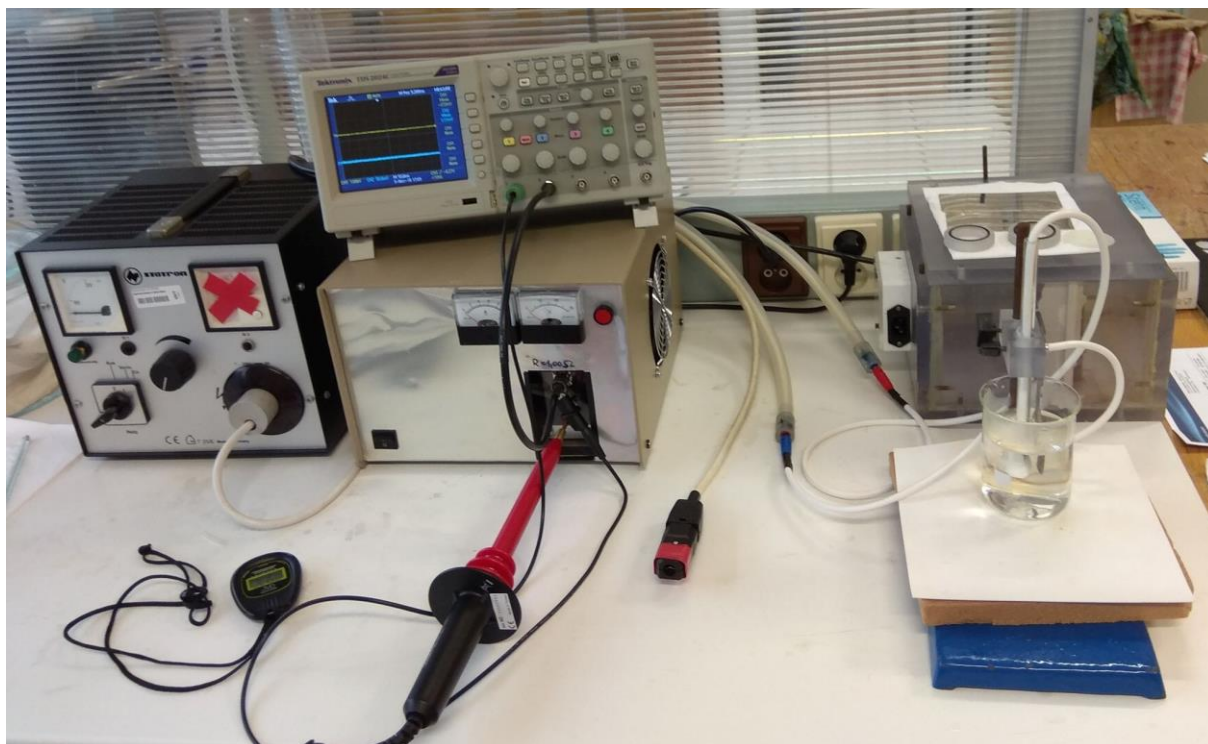
3.5 Použitý software pro zpracování dat

- Microsoft Office Word 365 ProPlus
- Microsoft Office Excel 365 ProPlus
- ChemStation for LC 3D Systems Rev. B.01.03-SR2
- 6300 Series TrapControl Version 6.2
- 6300 Series DataAnalysis Version 6.2
- 6300 Series QuantAnalysis Version 6.2

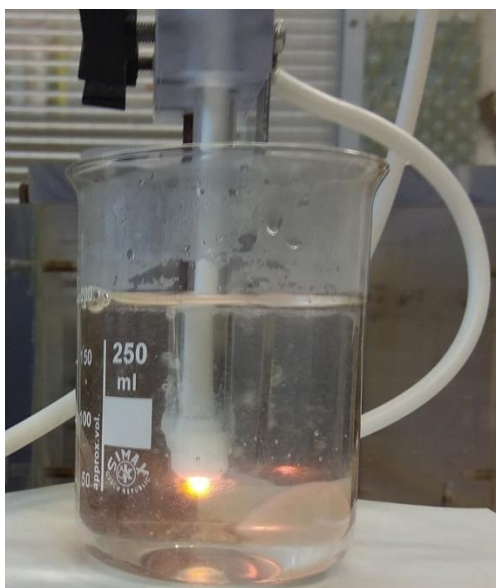
3.6 Použitá aparatura

3.6.1 Plazmový reaktor

Použitá aparatura sloužící ke generaci plazmatu se skládá ze zdroje vysokého stejnosměrného napětí. Zdroj napětí byl zapojen do lokální elektrické sítě o napětí 230 V. Soustava elektrod je tvořena hlavní elektrodou z wolframového drátu, který je ukotven v keramické trysce a protielektrodou, kterou byla plochá hliníková elektroda. Tyto elektrody byly ponořeny do kádinky, ve které se nacházely modelové vodné roztoky ibuprofenu. Mezi elektrody bylo poté vpuštěno stejnosměrné napětí, díky čemuž došlo ke vzniku kombinovaného výboje na štěrbině a korónového výboje. Ke kombinovanému výboji dochází proto, že keramická tryska přesahuje svou délkou wolframový drát. Výkon použitý na soustavu dosahoval stabilní hodnoty přibližně 50 W. Celkový pohled na aparaturu viz *Obrázek 14*. Na *Obrázku 15* je znázorněn bližší pohled na reaktor s ponořenými elektrodami. V roztoku je přidán elektrolyt (chlorid sodný), který zvyšuje vodivost roztoku. Zbarvení plazmatu má oranžovou barvu, díky excitaci a následné deexcitaci sodíkových iontů.



Obrázek 14: Celkový pohled na aparaturu



Obrázek 15: Pohled na reaktor

3.6.2 Aparatura pro stanovení ibuprofenu

Pro stanovení ibuprofenu byla vybrána metoda tandemového zapojení kapalinového chromatografu s hmotnostním spektrometrem. Použitou ionizační technikou byl elektrosprej a jako analyzátor byla použita iontová past. Kapalinový chromatograf je spolu s hmotnostním spektrometrem zobrazen na *Obrázku 16*. Vyextrahovaný chromatogram je znázorněn na *Obrázku 17*. Na *Obrázku 18* je zobrazeno hmotnostní spektrum namíchaného modelového roztoku. Pro stanovení ibuprofenu pomocí LC-ESI-MS byla použita optimalizovaná metoda.

Nastavení jednotlivých parametrů kapalinového chromatografu je znázorněno v *Tabulce 1* a hmotnostního spektrometru v *Tabulce 2*.



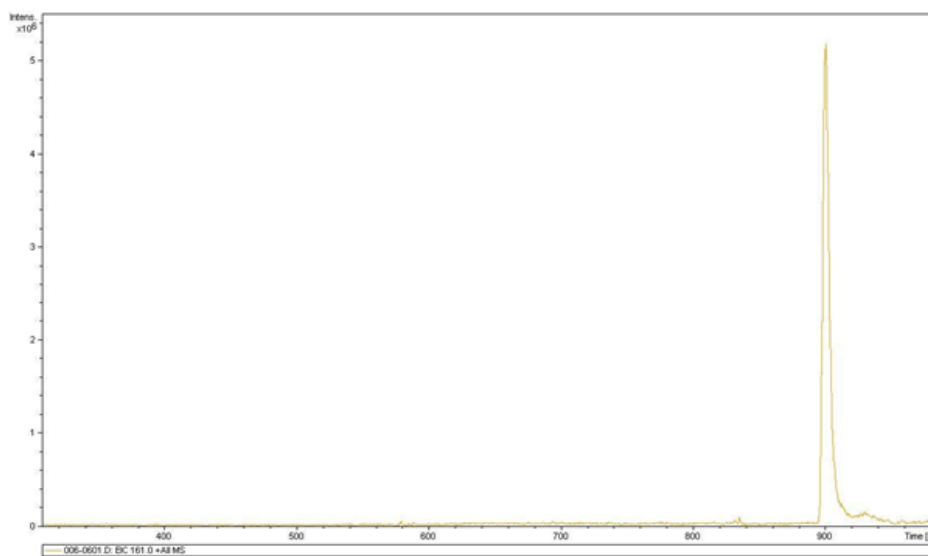
Obrázek 16: Použitý kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr

Tabulka 1: Parametry kapalinového chromatografu pro stanovení ibuprofenu

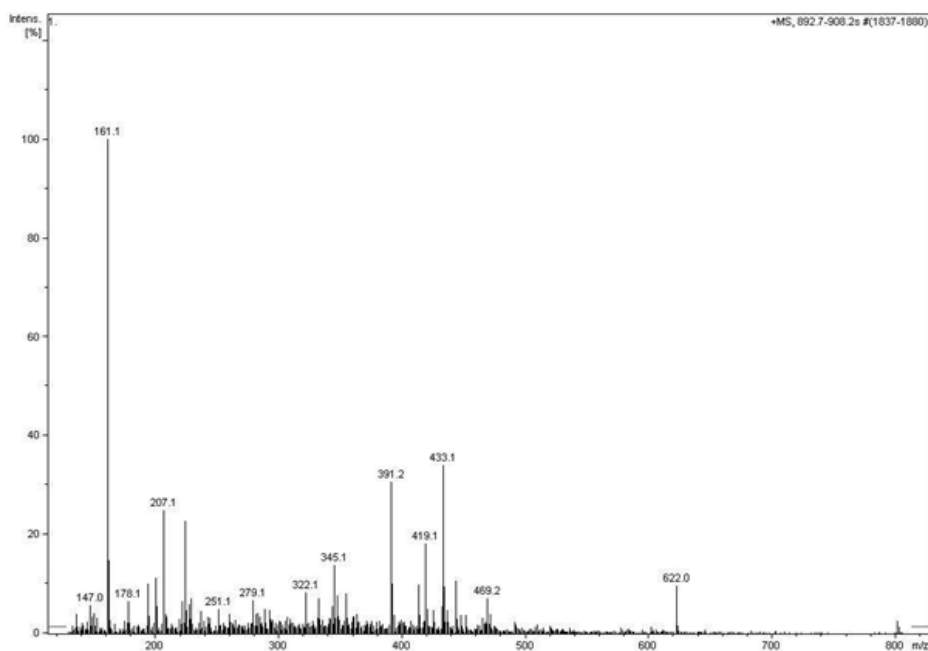
Nástřik	3 μ l	
Průtok mobilní fáze	0,22 ml/min	
Teplota kolony	40 °C	
Mobilní fáze A	0,01M HCOOH v milli-Q vodě	
Mobilní fáze B	Acetonitril	
Gradient mobilní fáze	t (min)	B (%)
	0,0	10
	0,2	10
	13,6	100
	18,0	100
	21,0	10
Posttime na ekvilibraci kolony	13,0	

Tabulka 2: Parametry hmotnostního spektrometru pro stanovení ibuprofenu

Tlak zmlžovače	25 psi
Průtok sušícího plynu	10 l/min
Teplota sušícího plynu	350 °C
Polarita	Pozitivní – ESI+
Použitý mód	Scan
Rozsah skenovacích hmot	130–810 m/z



Obrázek 17: Extrahovaný iontový chromatogram pro ibuprofen



Obrázek 18: Hmotnostní spektrum připraveného modelového roztoku se signálem ibuprofenu na hodnotě m/z 207,1 připadající $[M+1]$

3.7 Příprava roztoků

3.7.1 Příprava zásobních roztoků ibuprofenu

Na analytických vahách bylo naváženo 0,01 g práškového ibuprofenu. Toto množství bylo kvantitativně převedeno do 10ml odměrné baňky. Roztok byl následně milli-Q vodou doplněn po rysku odměrné baňky. Obsah baňky byl důkladně promíchán. Výsledná koncentrace roztoku činila 1 mg/ml. Ze získaného roztoku bylo pomocí automatické pipety odebráno množství 0,1 ml, které bylo převedeno do 10ml odměrné baňky. Následně byla baňka milli-Q vodou doplněna po rysku. Poté byl roztok důkladně promíchán. Výsledná koncentrace roztoku činila 10 µg/ml. Z připraveného roztoku bylo poté opět pomocí automatické pipety odebráno množství 0,1 ml, které bylo převedeno do 1ml odměrné baňky. Pomocí milli-Q vody byl obsah baňky doplněn po rysku a poté byl obsah baňky důkladně promíchán. Výsledná koncentrace činila 1 µg/ml. Koncentrace získaných roztoků jsou přehledně uvedeny v *Tabulce 3*.

Tabulka 3: Koncentrace jednotlivých roztoků

Číslo zásobního roztoku	Koncentrace
1	1 mg/ml
2	10 µg/ml
3	1 µg/ml

3.7.2 Příprava kalibračních roztoků ibuprofenu

Kalibrační roztoky ibuprofenu byly připraveny ředěním zásobního roztoku č. 3 (viz *Tabulka 3*) pomocí milli-Q vody. Nejvyšší hodnota koncentrace kalibrační řady měla totožnou hodnotu jako zásobní roztok č. 3, nejmenší byla desetkrát menší než tento roztok. Kalibrační řada byla volena tak, aby odpovídala koncentracím modelových roztoků před a po použití plazmatu. Všechny hodnoty kalibrační řady jsou uvedeny v *Tabulce 4*.

Tabulka 4: Hodnoty koncentrace kalibrační řady

Číslo roztoku kalibrační řady	Koncentrace (µg/ml)
1	0,1
2	0,2
3	0,4
4	0,6
5	0,8
6	1,0

3.7.3 Příprava modelových roztoků ibuprofenu

Modelové roztoky v různých prostředích byly připraveny ze zásobního roztoku č. 1 (viz *Tabulka 3*). Z tohoto roztoku bylo odebráno množství 1 ml, které bylo převedeno do 1000ml odměrné baňky. Milli-Q voda, která byla určena k doplnění baňky po rysku obsahovala vhodný elektrolyt pro navýšení vodivosti roztoku na přibližně 400 μS , protože při této vodivosti dochází ke snadnému zapálení plazmatu, popřípadě látku, která sloužila k úpravě prostředí. Obsah baňky byl důkladně promíchán. Výsledná koncentrace roztoku činila 1 $\mu\text{g/ml}$.

3.7.3.1 Příprava modelového roztoku ibuprofenu v neutrálním prostředí

V 1000 ml milli-Q vody bylo rozpuštěno přibližně 180 g chloridu sodného. Následně byl roztok ředěn milli-Q vodou, dokud nebylo dosaženo požadované vodivosti 400 μS . Poté byl tento roztok použit k doplnění 1000ml odměrné baňky, která obsahovala 1 ml zásobního roztoku č. 1 (viz *Tabulka 3*), po rysku. Obsah baňky byl důkladně promíchán. Výsledná koncentrace neutrálního roztoku ibuprofenu činila 1 $\mu\text{g/ml}$.

3.7.3.2 Příprava modelového roztoku ibuprofenu v zásaditém prostředí

V 1000 ml milli-Q vody bylo rozpuštěno přibližně 600 mg dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu disodného. Přidáním dalšího množství této látky nebo zředěním roztoku pomocí milli-Q vody byla upravena vodivost roztoku na požadovaných 400 μS . Poté byl tento roztok použit k doplnění 1000ml odměrné baňky, která obsahovala 1 ml zásobního roztoku č. 1 (viz *Tabulka 3*), po rysku. Obsah baňky byl důkladně promíchán. Výsledná koncentrace zásaditého roztoku ibuprofenu činila 1 $\mu\text{g/ml}$.

3.7.3.3 Příprava modelového roztoku ibuprofenu v kyselém prostředí

Do 1000 ml milli-Q vody bylo odebráno automatickou pipetou přibližně 270 μl kyseliny mravenčí. Přidáním dalšího množství této látky nebo zředěním roztoku pomocí milli-Q vody byla upravena vodivost roztoku na požadovaných 400 μS . Poté byl tento roztok použit k doplnění 1000ml odměrné baňky, která obsahovala 1 ml zásobního roztoku č. 1 (viz *Tabulka 3*), po rysku. Obsah baňky byl důkladně promíchán. Výsledná koncentrace kyselého roztoku ibuprofenu činila 1 $\mu\text{g/ml}$.

3.8 Provedení experimentu

Byla připravena aparatura pro ošetření modelových roztoků ibuprofenu plazmatem. Objem reaktoru s připraveným roztokem činil 200 ml. Nejprve byl v neutrálním roztoku posouzen vliv polarizace hlavní elektrody na účinnost degradace ibuprofenu. V prvním případě měla hlavní elektroda kladnou polaritu a ve druhém polaritu zápornou. Během ošetřování roztoku plazmatem byly odebírány vzorky v určitých časových intervalech. Tyto časy sloužily pro získání dat, ze kterých byla porovnána účinnost degradace v kladném zapojení hlavní elektrody a v zapojení záporném. Před a po aplikaci plazmatu byla také zaznamenána teplota, vodivost a pH roztoku.

Měření modelových roztoků ibuprofenu v různých prostředích probíhal obdobným způsobem. Nejdříve byla připravena aparatura pro ošetření roztoků ibuprofenu plazmatem. Objem reaktoru s připraveným roztokem činil 200 ml. Během ošetřování roztoku

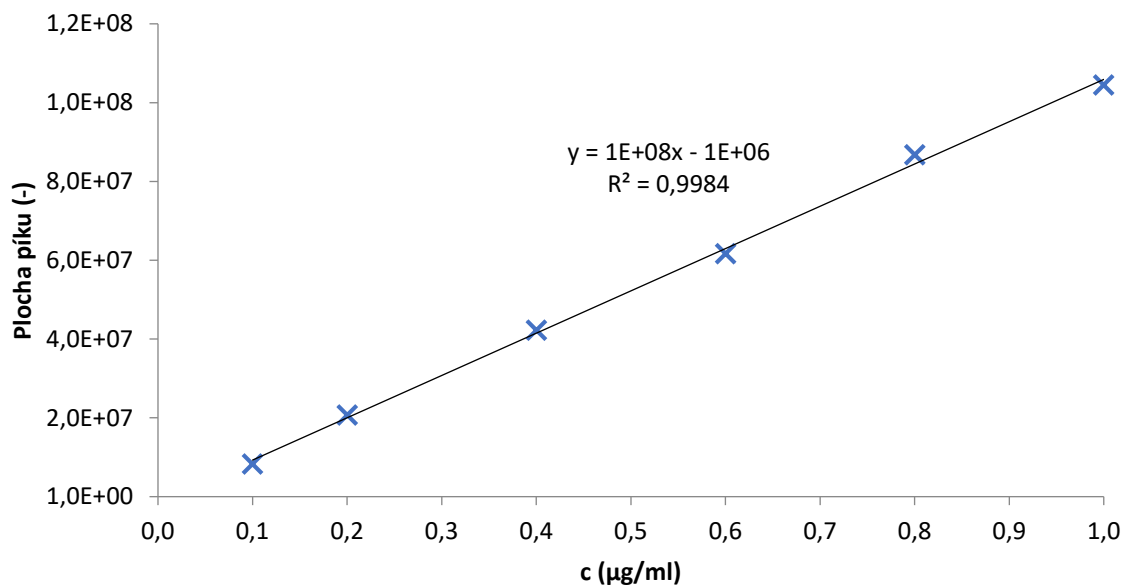
plazmatem byly odebírány vzorky v určitých časových intervalech. Tyto časy sloužily pro získání dat, ze kterých byla porovnána účinnost degradace v jednotlivých prostředích. Před a po aplikaci plazmatu byla také zaznamenána teplota, vodivost a pH roztoku. Měření pro každé prostředí bylo dvakrát opakováno. Celkem tedy bylo provedeno 9 měření.

Stanovení koncentrace všech odebraných vzorků bylo provedeno na kapalinovém chromatografu tandemově zapojeným s hmotnostním spektrometrem s optimalizovanými parametry pro stanovení ibuprofenu (viz *Tabulka 1*, resp. *Tabulka 2*).

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Kalibrační řada

Proměření kalibrační řady předcházelo každému měření odebraných vzorků při ošetřování modelových roztoků plazmatem. Byla vybrána charakteristická hodnota m/z pro ibuprofen, která činila 161. Pík pro ibuprofen se z kolony eluoval v čase 15,1 min. Integrací tohoto píku byla zjištěna jeho plocha. Poté mohla být vytvořena grafická závislost plochy píku na koncentraci ibuprofenu. Koncentrace použité kalibrační řady je znázorněna v *Tabulce 4*.



Graf 1: Kalibrační závislost ibuprofenu ze dne 9. 11. 2018

4.1.1 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Pro každé měření je nutné stanovit mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ). Mezi detekce se rozumí nejnížší koncentrace analytu, která ještě může být použitou analytickou metodou detekována (viz *Rovnice 5*). Neznamená to však, že může být za těchto podmínek také kvantifikována. Mez stanovitelnosti odpovídá množství analytu, které ještě lze s definovanou přesností stanovit. Ve zjednodušené formě se mezi stanovitelnosti rozumí nejnížší bod kalibrační křivky (viz *Rovnice 6*). Mez detekce byla stanovena na $0,03 \mu\text{g/ml}$ a mez stanovitelnosti na $0,1 \mu\text{g/ml}$. Jelikož byla pro všechna měření využívána stejná kalibrační řada, byla nejnížší koncentrace kalibrační řady vždy stejná. Protože je v *Rovnici 6* nejnížší koncentrace kalibrační řady jediná proměnná, zůstává také mez detekce a mez stanovitelnosti ve všech měřeních stejná [33, 34].

$$LOD = \frac{LOQ}{3,3}, \quad (5)$$

kde LOQ značí mez stanovitelnosti [33].

$$LOQ = c_{min}, \quad (6)$$

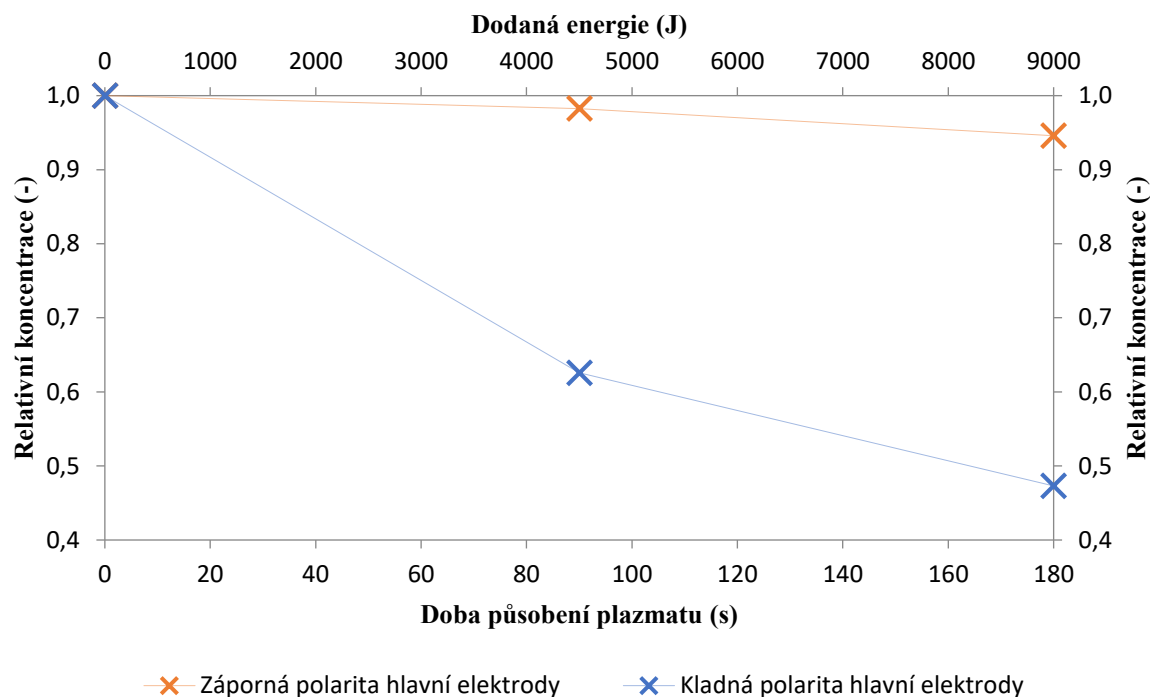
kde c_{min} značí nejnižší koncentraci kalibrační řady [33, 34].

4.2 Posouzení vlivu polaritý hlavních elektrod při degradaci ibuprofenu

Pro posouzení vlivu polaritý hlavních elektrod při degradaci ibuprofenu plazmatem byl k měření využit modelový roztok ibuprofenu v neutrálním prostředí. Nejprve byla hlavní elektroda (wolframový drát v keramické trysce) zapojena s kladnou polaritou, vedlejší hliníková elektroda měla tedy zápornou polaritu. Po ošetření roztoku plazmatem byl experiment zopakován se změněnou polaritou. Hlavní elektroda byla zapojena se zápornou polaritou a vedlejší elektroda měla tedy polaritu kladnou. Byly provedeny celkem 3 odběry v časech 0 s, 90 s a 180 s.

Tabulka 5: Sledované parametry a výchozí podmínky experimentu

	Polarita	Před použitím	Po použití
Teplota (°C)	Kladná	25,1	43,0
	Záporná	25,3	54,4
Vodivost (μS)	Kladná	370	330
	Záporná	370	285
Hodnota pH	Kladná	7,7	6,1
	Záporná	7,7	7,1
Výkon	50 W	Objem reaktoru	200 ml
Doba působení	180 s	Výchozí koncentrace	1,1 μg/ml



Graf 2: Závislost relativní koncentrace ibuprofenu na době působení plazmatu a dodané energii

Během ošetřování roztoku plazmatem docházelo ke změně sledovaných parametrů. V obou zapojeních se teplota roztoku zvyšovala, avšak v případě, kdy měla hlavní elektroda zápornou polaritu bylo toto navýšení mnohem výraznější (viz *Tabulka 5*). Zahřívání bylo způsobováno přeměnou dodávané energie na energii kinetickou a díky vyšší kinetické energii částic došlo k většímu zahřívání roztoku. Jelikož byla značná část dodané energie vynaložena na zahřívání roztoku, byla degradace ibuprofenu znatelně nižší (viz *Graf 2*) než v případě kladné polarity hlavní elektrody, kdy byl roztok zahříván méně. Hodnota vodivosti a hodnota pH se v obou případech snižovala, ale v případě kladné polarity hlavní elektrody byly tyto změny výraznější.

Degradace ibuprofenu probíhala v obou případech zapojení hlavní elektrody, avšak v případě kladného zapojení byla účinnost degradace vyšší. Vzhledem k výrazně vyšší účinnosti v prvním případě byla pro další experimenty hlavní elektroda zapojena s kladnou polaritou. Pro lepší grafické znázornění byly však v dalších experimentech odebírány vzorky v častějších intervalech a doba působení plazmatu byla zvýšena na 360 s. Použitý výkon, objem reaktoru a počáteční koncentrace zůstaly do dalších experimentů nepozměněny.

4.3 Aplikace plazmatu na modelové roztoky ibuprofenu

4.3.1 Modelový roztok ibuprofenu v neutrálním prostředí

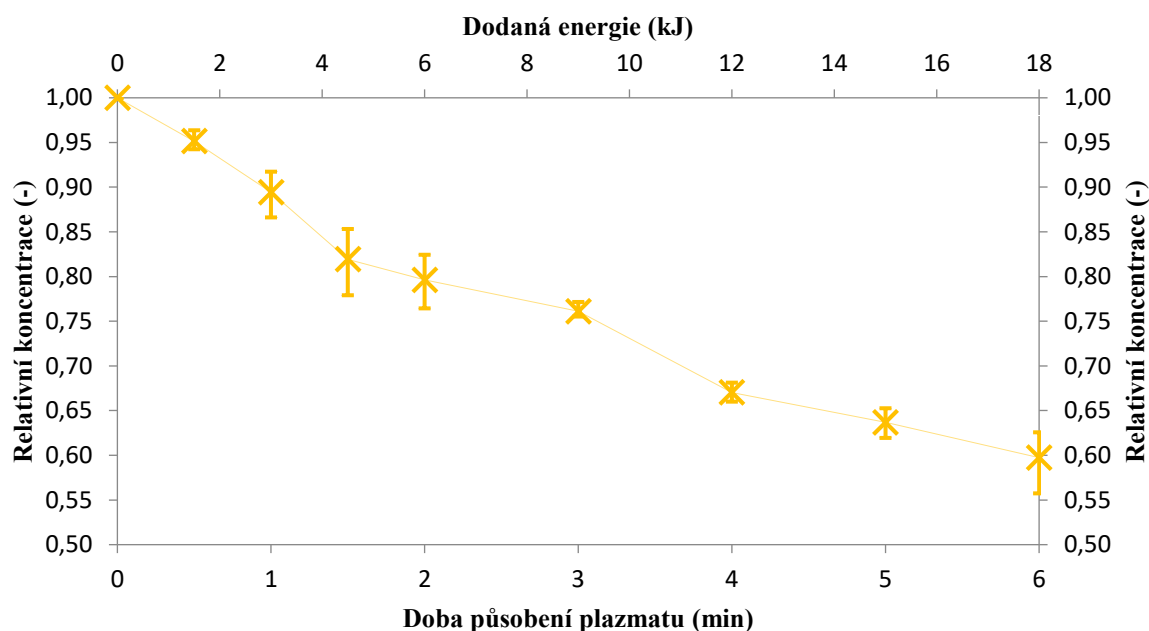
Připravený modelový roztok ibuprofenu v neutrálním prostředí byl ošetřován plazmatem. Sledované parametry a počáteční podmínky jsou uvedeny v *Tabulce 6*. Z naměřených a vypočítaných hodnot byl vytvořen *Graf 3*. Tento graf zobrazuje závislost relativní koncentrace ibuprofenu v roztoku na době působení plazmatu a také na dodané energii. Dodaná energie byla vypočítána z *Rovnice 7*. Chybové úsečky obsažené v grafu znázorňují rozmezí naměřených relativních koncentrací v jednotlivých provedených měřeních.

$$E = P \cdot t, \quad (7)$$

kde P značí použitý výkon a t dobu působení plazmatu na neutrální roztok ibuprofenu.

Tabulka 6: Sledované parametry a výchozí podmínky experimentu při degradaci ibuprofenu v neutrálním prostředí

	Před použitím		Po použití
Teplota (°C)	15,7		56,0
Vodivost (μS)	398		320
Hodnota pH	6,68		6,05
Výkon	50 W	Objem reaktoru	200 ml
Doba působení	6 min	Výchozí koncentrace	1,2 μg/ml



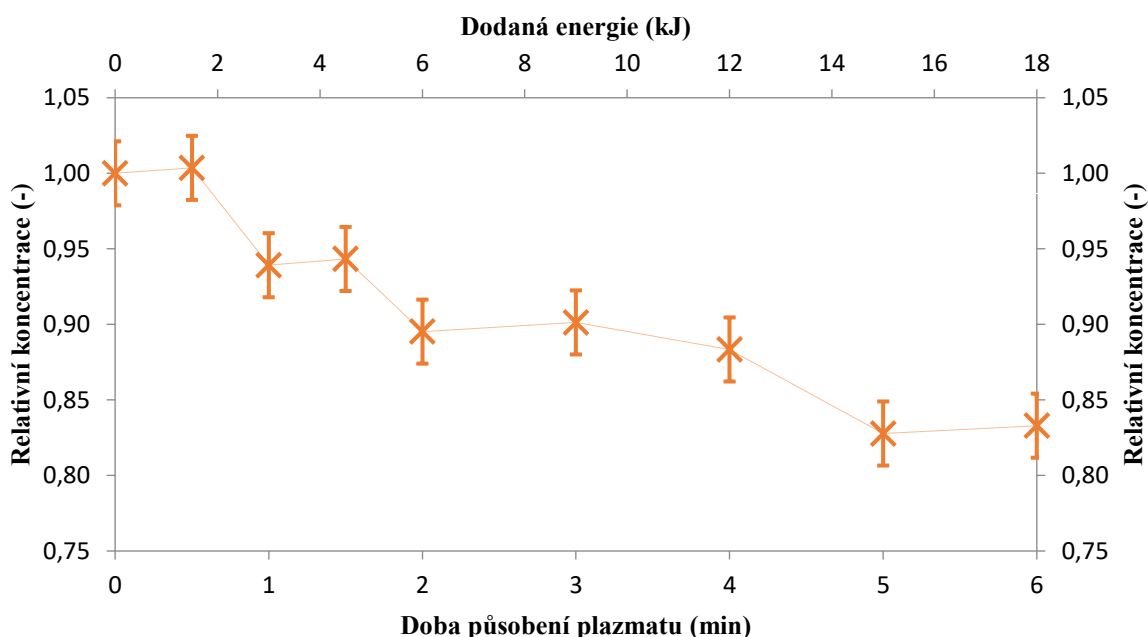
Graf 3: Závislost relativní koncentrace ibuprofenu na době působení plazmatu a dodané energii s chybovými úsečkami znázorňujícími rozmezí naměřených relativních koncentrací při degradaci ibuprofenu v neutrálním prostředí

4.3.2 Modelový roztok ibuprofenu v zásaditém prostředí

Připravený modelový roztok ibuprofenu v zásaditém prostředí byl ošetřován plazmatem. Sledované parametry a počáteční podmínky jsou uvedeny v *Tabulce 7*. Z naměřených a vypočítaných hodnot byl vytvořen *Graf 4*. Tento graf zobrazuje závislost relativní koncentrace ibuprofenu v roztoku na době působení plazmatu a také na dodané energii. Dodaná energie byla vypočítána z *Rovnice 7*. Chybové úsečky obsažené v grafu znázorňují rozmezí naměřených relativních koncentrací v jednotlivých provedených měřeních.

Tabulka 7: Sledované parametry a výchozí podmínky experimentu při degradaci ibuprofenu v zásaditém prostředí

	Před použitím		Po použití
Teplota (°C)	13,4		54,5
Vodivost (μS)	361		311
Hodnota pH	8,40		8,15
Výkon	50 W	Objem reaktoru	200 ml
Doba působení	6 min	Výchozí koncentrace	1,2 μg/ml



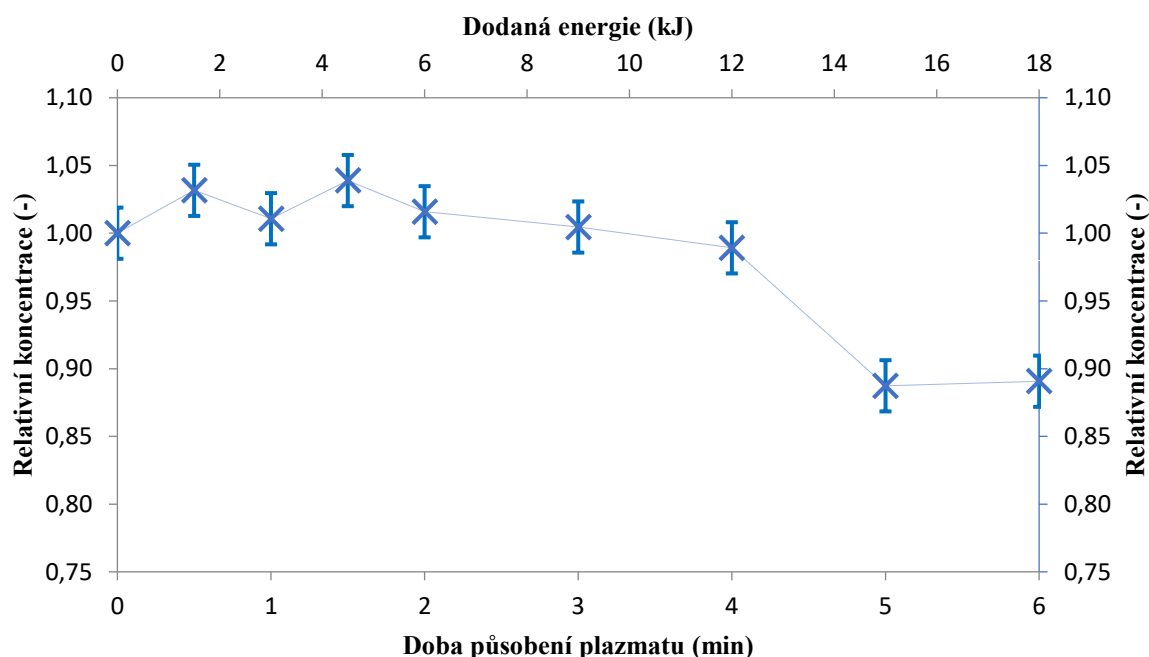
Graf 4: Závislost relativní koncentrace ibuprofenu na době působení plazmatu a dodané energii s chybovými úsečkami znázorňujícími rozmezí naměřených relativních koncentrací při degradaci ibuprofenu v zásaditém prostředí

4.3.3 Modelový roztok ibuprofenu v kyselém prostředí

Připravený modelový roztok ibuprofenu v kyselém prostředí byl ošetřován plazmatem. Sledované parametry a počáteční podmínky jsou uvedeny v *Tabulce 8*. Z naměřených a vypočítaných hodnot byl vytvořen *Graf 5*. Tento graf zobrazuje závislost relativní koncentrace ibuprofenu v roztoku na době působení plazmatu a také na dodané energii. Dodaná energie byla vypočítána z *Rovnice 7*. Chybové úsečky obsažené v grafu znázorňují rozmezí naměřených relativních koncentrací v jednotlivých provedených měřeních.

Tabulka 8: Sledované parametry a výchozí podmínky experimentu při degradaci ibuprofenu v kyselém prostředí

	Před použitím		Po použití
Teplota (°C)	14,2		55,8
Vodivost (μS)	402		204
Hodnota pH	3,88		3,88
Výkon	50 W	Objem reaktoru	200 ml
Doba působení	6 min	Výchozí koncentrace	1,1 μg/ml



Graf 5: Závislost relativní koncentrace ibuprofenu na době působení plazmatu a dodané energii s chybovými úsečkami znázorňujícími rozmezí naměřených relativních koncentrací při degradaci ibuprofenu v kyselém prostředí

4.3.4 Srovnání degradace ibuprofenu v jednotlivých prostředích

Pro každé prostředí byl experiment provedený třikrát. Naměřené hodnoty pro každé prostředí byly zprůměrovány a byl z nich sestrojen *Graf 6*. Tento graf zobrazuje relativní koncentraci na době působení plazmatu a dodané energii v jednotlivých prostředích. Podle *Rovnice 8* byla vypočítána účinnost degradace ibuprofenu po 6 minutách.

$$\eta = 100 - x_t, \quad (8)$$

kde x_t značí relativní koncentraci v procentech v určitém čase.

V případě neutrálního roztoku ibuprofenu činila účinnost odstranění ibuprofenu 40,27 %. V kyselém i zásaditém prostředí byla účinnost výrazně nižší, v zásaditém prostředí činila 16,71 %, v kyselém roztoku dokonce pouze 10,93 %. Účinnost odstranění v jednotlivých časových intervalech jsou uvedené v *Tabulce 9*. Záporné hodnoty jsou způsobeny nepřesností měřicího přístroje, protože hodnoty měřených koncentrací byly velice blízké. Účinnost degradace byla znatelně nižší, než byla zaznamenána ve výše zmíněných studiích, avšak je nutné poznamenat, že doba působení plazmatu byla výrazně nižší a tím i celková dodaná energie. Například ve studii, kde byl k degradaci využit plazmový generátor typu DBD bez použití katalyzátoru bylo dosaženo 85% degradace ibuprofenu, avšak doba působení plazmatu činila 15 minut a průměrný použitý výkon byl 65 W, což podle *Rovnice 7* činí 58,5 kJ dodané energie, což je znatelně větší množství, než bylo použito v této práci (18 kJ). Objem reaktoru v této studii byl však vyšší (350 ml) s porovnáním objemu v této práci (200 ml). V případě uspořádání DBD v argonové atmosféře byla degradace 100%, avšak množství dodané energie činilo dokonce 180 kJ. Objem reaktoru byl však v této práci vyšší (500 ml). Pro další měření je třeba prodloužit doby působení plazmatu ve všech prostředích, popřípadě snížit objem reaktoru, aby bylo zjištěno, jakým způsobem by probíhala další degradace ibuprofenu v jednotlivých prostředích a jak by se tedy změnila celková účinnost odstranění ibuprofenu z roztoku [22, 23, 24].

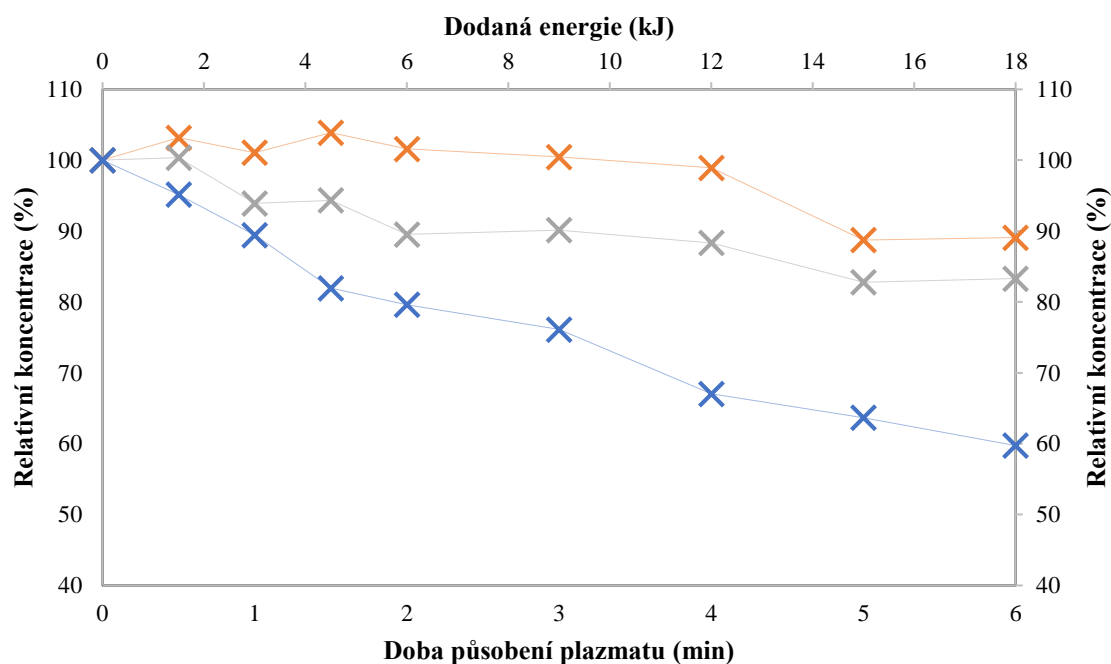
Z naměřených dat je možné určit, že v daných podmínkách byl použitý plazmový reaktor v této práci při degradaci ibuprofenu v neutrálním prostředí srovnatelně účinný v porovnání s ostatními studiemi, avšak je nutné provést další experimenty v optimalizovaných podmínkách, které by obnášely zejména delší dobu působení plazmatu na roztok, aby bylo zjištěno, jestli degradace ibuprofenu pokračuje i v dalších minutách [23, 24].

Degradace ibuprofenu byla výrazně nejúčinnější v neutrálním prostředí, proto zde byla taky proměřena stabilita odebraného vzorku po určitém čase. Tento experiment potvrdil, že na degradaci se podílí zejména hydroxylové radikály. Hydroxylové radikály jsou velice nestálé a rychle po svém vzniku zase zanikají. V průběhu ošetřování plazmatem však mohlo docházet například ke vzniku peroxidu vodíku, který je silným oxidačním činidlem. Nicméně k další degradaci ibuprofenu v čase již nedocházelo [20].

Hodnota pH se nejvíce změnila v neutrálním roztoku ibuprofenu, kde byla také degradace nejúčinnější. V kyselém prostředí zůstala hodnota pH nezměněna, což koreluje s nejnižší účinností degradace. Ve všech roztocích došlo ke snížení vodivosti, což může být způsobeno přeskupením přítomných elektrolytů na méně vodivé při ošetřování roztoku plazmatem. Během ošetřování roztoku plazmatem byl roztok značně zahříván, nejvyšší naměřená teplota činila 59,8 °C. Ibuprofen je však termostabilní až do teploty 152,6 °C [35]. Pro další výzkum vlivu prostředí na degradaci ibuprofenu je třeba stanovit vznikající meziprodukty, aby bylo zcela porozuměno degradačnímu mechanismu. Studium intermediátů je také důležité z hlediska bezpečnosti. Je třeba posoudit rizika vznikajících meziproduktů na ekosystém. Stanovení intermediátů by bylo provedeno například opět na HPLC-ESI-MS po ošetření modelových roztoků plazmatem, protože tato metoda dokáže poskytnout velice dobré meze detekce.

Tabulka 9: Účinnost degradace ibuprofenu v jednotlivých prostředích

Čas (min)	Účinnost degradace (%)		
	Neutrální prostředí	Kyselé prostředí	Zásadité prostředí
0,0	0,00	0,00	0,00
0,5	4,85	-3,17	-0,36
1,0	10,57	-1,07	6,08
1,5	18,07	-3,89	5,67
2,0	20,38	-1,58	10,48
3,0	23,89	-0,46	9,87
4,0	32,97	1,08	11,66
5,0	36,32	11,27	17,22
6,0	40,27	10,93	16,71



Graf 6: Porovnání relativní koncentrace při degradaci ibuprofenu v jednotlivých prostředích

5 ZÁVĚR

V závěrečné práci byla zpracována literární rešerše na téma degradace ibuprofenu ve vodách pomocí pokročilých oxidačních procesů, zejména pak ošetřením pomocí plazmatu, a jejich stanovení analytickými metodami. Ibuprofen patří k nejrozšířenějším nesteroidním antiflogistikům, proto byl vybrán jako vhodný analyt k provedeným experimentům. Degradace byla umožněna použitím plazmového generátoru. Jako vhodná metoda ke stanovení účinnosti degradace ibuprofenu v modelových vodách byla vybrána HPLC-ESI-MS.

V experimentální části závěrečné práce byl posouzen vliv polarity hlavní wolframové elektrody na degradaci ibuprofenu v modelových vodách. Jako účinnější bylo určeno kladné zapojení hlavní elektrody, a proto bylo toto uspořádání použito na další experimenty. Dále byly srovnány účinnosti degradace ibuprofenu v modelových roztocích v neutrálním, zásaditém a kyselém prostředí. Nejúčinnější degradace probíhala v neutrálních roztocích, v zásaditých roztocích byla degradace znatelně nižší a v kyselých roztocích byla zcela minimální.

Naměřené výsledky byly srovnány s vědeckými studiemi zabývajícími se degradací ibuprofenu, popřípadě dalších nesteroidních protizánětlivých látek. Účinnost odstranění ibuprofenu byla v této práci znatelně nižší v porovnání s těmito studiemi, avšak velký vliv na tuto skutečnost měly jiné počáteční podmínky a parametry experimentu, zejména pak doba působení plazmatu na modelové roztoky.

Provedené experimenty prokázaly, že je degradace ibuprofenu ošetřením pomocí plazmatu nejen možná, ale i relativně účinná. V dalších experimentech je však nutné optimalizovat parametry, zejména navýšit dobu působení plazmatu na modelové roztoky, popřípadě snížit objem reaktoru. Další experimenty by měly prokázat, jestli je možné účinně využít ošetření plazmatem v roztocích obsahujících více látek současně a také, jestli je možné využít ošetření plazmatem na reálné vzorky z odpadních vod.

6 ZDROJE

- [1] KOTYZA, Jan, Petr SOUDEK, Zdeněk KAFKA a Tomáš VANĚK. Léčiva – „nový“ enviromentální polutant. *Chemické listy* [online]. 2009, **103**, 540-547 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_07_540-547.pdf
- [2] DEBLONDE, Tiphane, Carole COSSU-LEGUILLE a Philippe HARTEMANN. Emerging pollutants in wastewater: A review of the literature. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* [online]. 2011, 214(6), 442-448 [cit. 2019-03-23]. DOI: 10.1016/j.ijheh.2011.08.002. ISSN 14384639. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438463911001325>
- [3] BENEŠ, Jiří. *POKROČILÉ OXIDAČNÍ PROCESY – AOP* [online]. České Budějovice: W&ET Team, 2008 [cit. 2019-05-07]. Pitná voda. ISBN 978-80-254-2034-8. Dostupné z: <http://www.wet-team.cz/files/konference/2008/PV%20Tabor/20-Benes.pdf>
- [4] KVÍTKOVÁ, Lenka. *Základy chemie léčivých látek I* [online]. Olomouc, 2012 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: http://aplchem.upol.cz/predmety/ZCLL/Skripta_ZCLL1.pdf
- [5] Zákon č. 378/2007 Sb.: Zákon o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech). *Zákony pro lidi* [online]. Praha: AION CS, c2010-2018, 7. 3. 2018 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2007-378>
- [6] HAMPL, František a Jaroslav PALEČEK. *Farmakochemie*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2002. ISBN 80-7080-495-5.
- [7] MARTÍNKOVÁ, Jiřina, Stanislav MIČUDA a Jiřina CHLÁDKOVÁ. *Farmakologie pro studenty zdravotnických oborů*. Praha: Grada, 2007. ISBN 978-80-247-1356-4.
- [8] DOSEDEĚL, Martin. Nežádoucí účinky a lékové interakce nesteroidních antiflogistik a jejich management pohledem farmaceuta. *Praktické lékařství* [online]. 16. 4. 2014 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2014/03/02.pdf>
- [9] SUCHÝ, David a Marek REICHEL. Moderní nesteroidní antirevmatika: klady a zápory. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2003 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <https://www.klinickafarmakologie.cz/pdfs/far/2003/03/08.pdf>
- [10] Reyeův syndrom. *Velký lékařský slovník* [online]. Praha: Maxdorf, c1998-2018 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <http://lekarske.slovníky.cz/pojem/reyeuv-syndrom>
- [11] DOLEŽAL, Martin et al. *Farmaceutická chemie léčiv působících na centrální nervový systém*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2382-5.
- [12] 4. čtvrtletí a za celý rok 2009: spotřeba léčiv v České republice v r. 2009 (dodávky léčiv do zdravotnických zařízení a prodejcům vyhrazených léčiv). *SÚKL: státní útvar pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 2010 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/4-ctvrtleti-a-za-cely-rok-2009?highlightWords=ibuprofen>
- [13] Rok 2018. *SÚKL: Státní útvar pro kontrolu léčiv* [online]. Praha: SÚKL, c2010 [cit. 2019-05-18]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/rok-2018?fbclid=IwAR0PC3l5pnThBXfkZGRnWBrbaovTUUS6jx-oPco9YpTRBsrUyoR5XO2RuVQ>
- [14] Ibuprofen – zahájeno celoevropské přehodnocení. *SÚKL: státní útvar pro kontrolu léčiv* [online]. Praha, 19. 4. 2016 [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <http://www.sukl.cz/ibuprofen-zahajeno-celoevropske-prehodnoceni?highlightWords=ibalgin>
- [15] JAN BINDZAR A KOLEKTIV. *Základy úpravy a čištění vod*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. ISBN 978-807-0807-293.

- [16] GARCIA-AC, Araceli, Pedro A. SEGURA, Christian GAGNON a Sébastien SAUVÉ. Determination of bezafibrate, methotrexate, cyclophosphamide, orlistat and enalapril in waste and surface waters using on-line solid-phase extraction liquid chromatography coupled to polarity-switching electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Environmental Monitoring* [online]. 2009, **11**(4), 830-838 [cit. 2019-05-18]. DOI: 10.1039/b817570e. ISSN 1464-0325. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b817570e>
- [17] LUKEŠ, Petr. *Water treatment by pulsed streamer corona discharge: Ph.D. Thesis*. Prague: Institute of Plasma Physics, AS CR, 2001. ISBN 80-902724-6-0.
- [18] CHEN, Francis F. *Úvod do fyziky plazmatu*. Praha: Academia, 1983. ISBN (váz.).
- [19] MARTIŠOVITŠ, Viktor. *Základy fyziky plazmy: učebný text pre magisterské štúdium*. Bratislava: Vydavateľstvo UK, 2004. ISBN 80-223-1983-X.
- [20] KOZÁKOVÁ, Zdenka, František KRČMA, Michal VAŠÍČEK, Lucie HLAVATÁ a Lenka HLOCHOVÁ. Generation of dc pin-hole discharges in liquids: comparison of discharge breakdown in diaphragm and capillary configuration. *The European Physical Journal D* [online]. 2015, **69**(4) [cit. 2019-05-07]. DOI: 10.1140/epjd/e2015-50331-6. ISSN 1434-6060. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1140/epjd/e2015-50331-6>
- [21] KRČMA, F, Z KOZÁKOVÁ, V MAZÁNKOVÁ, J HORÁK, L DOSTÁL, B OBRADOVIĆ, A NIKIFOROV a T BELMONTE. Characterization of novel pin-hole based plasma source for generation of discharge in liquids supplied by DC non-pulsing voltage. *Plasma Sources Science and Technology* [online]. 2018, **27**(6) [cit. 2019-05-07]. DOI: 10.1088/1361-6595/aac521. ISSN 1361-6595. Dostupné z: <http://stacks.iop.org/0963-0252/27/i=6/a=065001?key=crossref.c051e7edf7c4a5b3a960e3e6ed6ca44d>
- [22] HAMA AZIZ, Kosar Hikmat, Hans MIESSNER, Siegfried MUELLER, Dieter KALASS, Detlev MOELLER, Ibrahim KHORSHID a Mohammad Amin M. RASHID. Degradation of pharmaceutical diclofenac and ibuprofen in aqueous solution, a direct comparison of ozonation, photocatalysis, and non-thermal plasma. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2017, **313**, 1033-1041 [cit. 2019-05-19]. DOI: 10.1016/j.cej.2016.10.137. ISSN 13858947. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716315467>
- [23] MARKOVIĆ, Marijana, Milica JOVIĆ, Dalibor STANKOVIĆ, Vesna KOVAČEVIĆ, Goran ROGLIĆ, Gordana GOJGIĆ-CVIJOVIĆ a Dragan MANOJLOVIĆ. Application of non-thermal plasma reactor and Fenton reaction for degradation of ibuprofen. *Science of The Total Environment* [online]. 2015, **505**, 1148-1155 [cit. 2019-05-19]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.017. ISSN 00489697. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896971401599X>
- [24] MAGUREANU, Monica, Nicolae Bogdan MANDACHE, Corina BRADU a Vasile I. PARVULESCU. High efficiency plasma treatment of water contaminated with organic compounds. Study of the degradation of ibuprofen. *Plasma Processes and Polymers* [online]. 2018, **15**(6), 1-9 [cit. 2019-05-19]. DOI: 10.1002/ppap.201700201. ISSN 16128850. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/ppap.201700201>

- [25] BANASCHIK, Robert, Petr LUKES, Helena JABLONOWSKI, Malte U. HAMMER, Klaus-Dieter WELTMANN a Juergen F. KOLB. Potential of pulsed corona discharges generated in water for the degradation of persistent pharmaceutical residues. *Water Research* [online]. 2015, **84**, 127-135 [cit. 2019-05-19]. DOI: 10.1016/j.watres.2015.07.018. ISSN 00431354. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135415301202>
- [26] ZÁRUBA, Kamil. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2016. ISBN 978-80-7080-950-1.
- [27] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 8086369072.
- [28] DRBAL, Karel a Martin KŘÍŽEK. *Analytická chemie*. České Budějovice: Jihočeská univerzita, 1999. ISBN 8070403527.
- [29] TÖPPNER, Katrin, Dirk HANSEN a Elmar HERBIG. Typical setup of an HPLC system. In: *Laboratory Journal* [online]. Göttingen: Sartorius [cit. 2018-07-29]. Dostupné z: <https://www.laboratory-journal.com/applications/analytics/hplc-analysis>
- [30] FRIEDECKÝ, D. a K. LEMR. Úvod do hmotnostní spektrometrie. *KLINICKÁ BIOCHEMIE A METABOLISMUS* [online]. 2012, (3), 152-157 [cit. 2019-05-07]. ISSN 2570-9402. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2012/2012-3/KBM12-3-Friedecky-152.pdf>
- [31] HOLČAPEK, Michal. Hmotnostní spektrometrie. *Michal Holčapek: Mass Spectrometry Group* [online]. Pardubice: M. Holčapek, c2006-2019 [cit. 2019-05-07]. Dostupné z: http://holcapek.upce.cz/teaching/Mol_spek/Mol_spek_prednaska6_MS.pdf
- [32] GROSS, Jürgen H. *Mass Spectrometry* [online]. 2. vyd. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011. DOI: 10.1007/978-3-642-10711-5. ISBN 978-3-642-10709-2.
- [33] SHRIVASTAVA, Alankar a VipinB GUPTA. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists* [online]. 2011, 2(1) [cit. 2019-04-22]. DOI: 10.4103/2229-5186.79345. ISSN 2229-5186. Dostupné z: <http://www.cysonline.org/text.asp?2011/2/1/21/79345>
- [34] Zajištění jakosti ve forenzní analýze, rozhodovací analýza, legislativní aspekty. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. Praha: VŠCHT [cit. 2019-05-15]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~poustkaj/AMFA%20JH1%20QA.pdf>
- [35] RAMUKUTTY, Sundaram a Esakki RAMACHANDRAN. Reaction Rate Models for the Thermal Decomposition of Ibuprofen Crystals. *Journal of Crystallization Process and Technology* [online]. 2014, **04**(02), 71-78 [cit. 2019-05-19]. DOI: 10.4236/jcpt.2014.42010. ISSN 2161-7678. Dostupné z: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/jcpt.2014.42010>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

NSAIDs	Nesteroidní protizánětlivé látky
AOP	Pokročilé oxidační procesy
UV	Ultrafialové (záření/fotolýza)
NTP	Nízkoteplotní plazma
DBD	Dielektrický bariérový výboj
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UHPLC	Ultra-vysokoúčinná kapalinová chromatografie
EI	Elektronová ionizace
CI	Chemická ionizace
ESI	Ionizace elektrosprejem
MALDI	Desorpce a ionizace laserem za účasti matrice
LC/MS	Tandemové spojení kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie
GC/MS	Tandemové spojení plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie
HPLC-ESI-MS	Tandemové spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie při ionizaci elektrosprejem
LOD	Mez detekce
LOQ	Mez stanovitelnosti
ČR	Česká republika